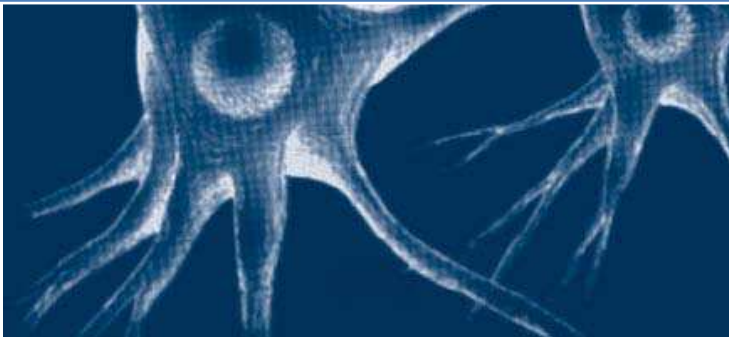


DETECCIÓN TEMPRANA DEL ALZHEIMER MEDIANTE LA ESTIMACIÓN VOLUMÉTRICA DE LA CORTEZA TEMPOROPOLAR MEDIAL SOBRE IMÁGENES DE RESONANCIA MAGNÉTICA



ELISABETH PAIS SOUSA

Trabajo de Fin de Máster de investigación
en CC.SS. (2011)

Directora del TFM: Ana M^a Insausti
Serrano

RESUMEN

Palabras clave:

Alzheimer, early detection, MRI, volumetric analysis, medial temporopolar cortice.

Alzheimer, detección temprana, RM, análisis volumétrico, corteza temporopolar medial.

Material y métodos:

1. Selección de los pacientes. Obtención de las imágenes de resonancia y de una caracterización neuropsicológica de los sujetos.
2. Estudio y definición de las distintas áreas del lóbulo temporal medial sobre preparaciones histológicas cerebrales de 48 pacientes. Para ello se utilizó un protocolo ya descrito en el año 1998, donde se dan las directrices para localizar los límites de las diferentes áreas sobre las imágenes de Resonancia Magnética (RM).
3. Segmentación manual de las imágenes de RM.
4. Realización de la volumetría y del estudio estadístico.

Resultados:

Nuestros resultados muestran que en los casos controles así como en los pacientes con Deterioro Cognitivo Leve (DCL) no amnésico, los valores volumétricos se conservaron, mientras que los sujetos con DCL amnésico (categoría que presenta mayor tasa de conversión a enfermedad de Alzheimer) mostraron una disminución volumétrica en las estructuras de formación del hipocampo y lóbulo temporal medial.

Conclusiones:

La metodología de estudio necesita desarrollarse aún más para poder disponer de una automatización completa de las herramientas utilizadas, pero los resultados parecen ser lo suficientemente prometedores para la detección temprana de los cambios volumétricos en pacientes con riesgo de desarrollar Alzheimer.

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

CE /EC	Corteza Entorrinal/ Entorhinal Cortex
CTM	Corteza Temporal Medial
CTP	Corteza Temporopolar
DCL	Deterioro Cognitivo Leve
EA	Enfermedad de Alzheimer
FH	Formación del Hipocampo
HA	Haz Angular
HP	Hipocampo
LGN	Núcleo Geniculado Lateral
MRI	Magnetic Resonance Imaging
MTL	Lóbulo Temporal Medial
PET	Tomografía por Emisión de Positrones
PRC	Corteza Perirrinal
PPH	Corteza Parahipocámpica Posterior
RM	Resonancia Magnética
RMf	Resonancia Magnética funcional
RPH	Región ParaHipocámpica
SIMDA	Sistemas Inteligentes: Modelado, Desarrollo y Aplicaciones
SNC	Sistema Nervioso Central
TPC	Corteza Temporopolar
UNED	Universidad Nacional de Educación a Distancia

INDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1. Envejecimiento de la población.....	5
1.2. Senescencia y sistema nervioso central.....	6
1.3. Enfermedad de Alzheimer (EA) como causa principal de la demencia senil.....	9
1.4. Deterioro Cognitivo Leve (DCL) como indicador precoz de EA.....	12
2. OBJETIVOS.....	14
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	15
3.1. Selección de la muestra.....	16
3.2. Metodología en la segmentación.....	20
3.3. Definición de los límites de segmentación.....	24
3.4. Estimación volumétrica de la corteza temporopolar medial.....	27
4. RESULTADOS.....	29
4.1. Desarrollo y mejora del protocolo creado por Insausti et al. [28].....	29
4.2. Análisis de las variaciones volumétricas del estudio longitudinal.....	39
4.3. Mejora de las herramientas semiautomáticas de segmentación del MTL.....	40
5. DISCUSIÓN.....	44
6. CONCLUSIÓN.....	48
7. ANEXO.....	49
8. BIBLIOGRAFÍA.....	52

1. INTRODUCCION

1.1. Envejecimiento de la población.

Se entiende por envejecimiento el aumento de la población con más de 60 años, acompañado por una reducción en el número de niños menores de 15 años.

El concepto de envejecimiento de la población es un índice que se utiliza para estudiar la demografía de un país. El aumento en el nivel de vida, suele conllevar aparejado una disminución de la natalidad y una mejoría en los sistemas sanitarios y servicios sociales. Estas circunstancias promueven un aumento en la supervivencia de las personas mayores. Sin embargo en los países en vías de desarrollo, no existe ese envejecimiento poblacional ya que, aunque tienen unos índices mayores de natalidad, tienen peores sistemas sanitarios y una mayor mortalidad entre su población infantil y adulta.

La expectativa de vida media en los países desarrollados se ha duplicado en los últimos 100 años, pasando de unos cuarenta años al comienzo del siglo XX a los 80 o más en la población de algunos países en la actualidad.

En el estudio de las Naciones Unidas [1], “Envejecimiento de la población 2009”, este fenómeno del envejecimiento es un reto nuevo porque no se había registrado previamente en la historia de la humanidad. Se cree que en 2045, el número de ancianos a nivel mundial habrá superado al de niños.

Este hecho tiene consecuencias a todos los niveles: a nivel económico, político y, social donde, por ejemplo, se ve influida la composición familiar, la epidemiología y la necesidad de los servicios de salud.

El cambio en la composición de la población llevará consigo distintos procesos como son: a) una feminización de la población por la diferencia de mortalidad entre hombres y mujeres: a los 80 años, las mujeres doblan en número a los hombres; b) un sobre-envejecimiento porque son cada vez más el segmento de población que alcanza edades avanzadas; c) y un aumento de la dependencia por la composición y tradición familiar de cuidado de los mayores.

Este cambio también ha obligado a adaptarse a la comunidad científica médica porque la presentación, prevalencia y gravedad de diferentes enfermedades ha cambiado, tomando gran relevancia el estudio de aquellas relacionadas con la edad.

Una de estas enfermedades, es la demencia.

En los últimos años la demencia ha pasado de la letra pequeña de los textos neurológicos y neuropatológicos, a ocupar la primera página de la prensa médica, de los periódicos generales y de las preocupaciones de las

autoridades sanitarias de todo el mundo desarrollado. Este cambio se debe a dos fenómenos: uno conceptual y otro epidemiológico.

El cambio conceptual ha sido el de no considerar que la demencia y el envejecimiento sean dos fenómenos obligatoriamente asociados entre sí (como daba a entender el antiguo concepto-comodín de <demencia senil>).

El cambio epidemiológico tiene que ver con la evolución demográfica y el envejecimiento progresivo de la población, el cual hace que muchas más personas estén expuestas al desarrollo de la demencia. Cuanta más población anciana, habrá mayor número de casos de demencia, pero también va a existir mucha población que no va a presentar esta patología.

Se considera que la demencia es un proceso patológico, con sus causas específicas y que con las investigaciones y adelantos que se están realizando, se aspira a que pueda ser evitada, o, si el proceso ya ha hecho su aparición, que puedan encontrarse tratamientos eficaces.

1.2. Senescencia y sistema nervioso central.

Ya de por sí, es difícil definir los límites entre los estados de salud/enfermedad en relación al envejecimiento, pero cuando queremos definir esos límites a nivel del sistema nervioso central (SNC) tiene una dificultad es sobreañadida.

En el proceso de envejecimiento existen ciertos cambios en la anatomía del SNC. Además de una reducción progresiva del peso y volumen cerebral, se da una dilatación de los ventrículos. A nivel neuropatológico, nos encontramos con una pérdida neuronal y además de otros hallazgos que hacen más difícil la especificidad diagnóstica de enfermedades degenerativas.

A partir de los 56 años comienzan a aparecer ovillos de neurofilamentos en algunas zonas del lóbulo temporal medial, concretamente a nivel de la corteza entorrinal (CE), que son especialmente sensibles y precoces en su presentación. También aparecen placas seniles distribuidas en el neocórtex en la mayoría de los ancianos.

La morfología cerebral cambia durante el proceso de envejecimiento. El peso en fresco del cerebro humano que, como afirma Haug [2] se mantiene sobre los 1400 g en los varones y 1260 g en las mujeres desde la maduración en la infancia hasta la edad media, y tiende a disminuir con el paso de los años [3]. Parece que es después de los 55 cuando sufre una disminución progresiva alcanzando su mínimo hacia los 86 años [4].

La capacidad de las funciones superiores, como la resolución de problemas, el procesamiento de la información, etc., también declinan en la vejez [5].

Una de estas funciones superiores es la memoria.

Podemos definir la memoria como la capacidad mental que posibilita a un sujeto registrar, conservar y evocar las experiencias (ideas, imágenes, acontecimientos, sentimientos, etc.).

Existen diferentes tipos de clasificaciones de la memoria=

- Según su duración encontramos:
 1. Memoria sensorial: que puede ser visual (de escasa duración, menos de un segundo) y auditiva (también breve, entre uno y dos segundos de duración).
 2. Memoria inmediata o a corto plazo: duración de menos de un minuto y limitada a unos pocos objetos.
 3. Memoria reciente: su duración oscila entre unos minutos y varias semanas, y su capacidad de almacenamiento es mayor que en la memoria inmediata (por ejemplo, dónde estuvo ayer, qué ha comido hoy o que actividades ha realizado).
 4. Memoria remota: mantiene la información desde semanas hasta toda la vida (dónde vivió en la infancia, a qué colegio fue, o cómo se llamaban sus amigos).
- Otra clasificación de la memoria se basa en su contenido:
 1. Memoria de referencia: contiene la información reciente y remota obtenida por experiencias previas.
 2. Memoria de trabajo: proceso activo que está siendo actualizado de manera continua por la experiencia de un momento determinado.
 3. Memoria episódica: contiene la información relativa a sucesos acontecidos en un momento y lugar determinados.
 4. Memoria semántica: contiene información que no varía, como por ejemplo, el número de horas que tiene el día o las capitales de provincia de Galicia.
 5. Memoria declarativa (o explícita): contiene los hechos del mundo y los acontecimientos personales del pasado que es necesario recuperar de manera consciente para recordarlos.
 6. Memoria de procedimiento (o implícita): aprendizaje y conservación de destrezas y habilidades, como peinarse o montar en bicicleta. Estos procedimientos se automatizan y no precisan de una ejecución consciente.

El descubrimiento de la relación de los procesos de la memoria, con la parte del cerebro con la que estaban directamente implicados, fue un hallazgo casual.

Durante mucho tiempo se desconocía la funcionalidad del lóbulo temporal (MTL), pensando que solamente tenía relación con las funciones olfatorias. Por ello no dudaban en realizar intervenciones de resección del mismo ante problemas como la epilepsia no tratable. Los neurocirujanos sabían que dejando intacto un lado del MTL no habría consecuencias. Para esclarecer la funcionalidad, fue clave el caso del paciente denominado HM. Este paciente padecía una epilepsia de origen temporal irreductible con los tratamientos habituales. Como única solución se le realizó una resección bilateral de esta zona. Las consecuencias a nivel neuropsicológico fueron inmediatas ya que perdió la capacidad de recordar acontecimientos recientes, sin embargo mantenía intacta la memoria remota. Scoville y Milner [6], concluyeron que el hipocampo tenía un papel crucial en la formación de la memoria reciente y era prudente aventurar que las zonas circundantes como la amígdala, también era probable que estuvieran implicadas. Se vio más tarde que isquemias reducidas al hipocampo, producían alteraciones también en los procesos de adquisición de la memoria reciente pero no tan gravemente como en el paciente HM [7].

En los procesos de envejecimiento existe un claro empeoramiento en la memoria reciente en sujetos normales ancianos a diferencia de lo que ocurre con la memoria remota [8]. Se ha comprobado que el lóbulo temporal medial es un área muy sensible que se ve afectada tempranamente, mientras que aquellas áreas que procesan la memoria remota, no se pierden.

Uno de los mejores métodos de los que disponemos para detectar la atrofia cerebral, es la RM. Con ella se ha comprobado que existe una mayor afectación a niveles corticales que subcorticales [9] y hay ciertas zonas más sensibles como son los lóbulos frontal, temporal y parietal [10]. Esta atrofia se debe a una disminución en el volumen de la sustancia gris pero también, aunque en una etapa algo posterior, está afectada la sustancia blanca, que puede ser secundaria a la pérdida neuronal [10].

1.3. La enfermedad de Alzheimer como causa principal de la demencia senil.

Podemos definir la demencia como un trastorno global de las funciones superiores (afecta la memoria, el pensamiento, el lenguaje, el juicio y el comportamiento), en un paciente en estado vigil y que se manifiesta como un deterioro lento, global, progresivo e irreversible [11].

Como ya Plum sostenía en 1979 [12], <la demencia es una epidemia que se avecina>, y esto es debido a la progresiva longevidad de la especie humana y a la mayor supervivencia de los pacientes demenciados, llamado por Bermejo [13] <el fracaso del éxito de la medicina>.

En las últimas dos décadas gracias a los avances en el cuidado de la salud, estamos asistiendo a un cambio progresivo de la distribución de la población según la edad, que conduce a un aumento en la proporción de personas mayores. De hecho, se espera que para el año 2050 España sea uno de los países del mundo con mayor número de personas mayores, alrededor de 16 millones (35% de la población). Como consecuencia, el número de patologías asociadas al envejecimiento, como las enfermedades neurodegenerativas también irá en aumento. Por lo tanto, el interés en la detección precoz de la demencia, y más específicamente de la enfermedad de Alzheimer (EA), ha aumentado en las últimas décadas.

Se ha estimado que más de 5 millones de personas están actualmente afectadas por la demencia en Europa. Por tanto, cada vez se hace más patente la utilidad social de la mejora en el diagnóstico y en el tratamiento de la EA.

Actualmente se considera la demencia como la tercera enfermedad más costosa detrás de las enfermedades cardiovasculares y el cáncer. Particularmente la EA tiene una prevalencia media en nuestro país del 2,2 al 6% en la población de más de 64 años, por lo que genera unos costes muy elevados tanto directos como indirectos que afectan no sólo al paciente y su entorno más cercano, sino a toda la sociedad.

Así pues los costes que conlleva esta enfermedad se deben a factores directos, indirectos e intangibles que se describen a continuación=

- Factores directos:
 - Cuidados médicos (visitas, hospitalización).
 - Tratamientos farmacológicos.
 - Adaptación del entorno.
 - Atención domiciliaria.
 - Cuidadores profesionales.
 - Residencias

- Factores indirectos:
 - Pérdida productiva del paciente y de familiares (cuidador principal y resto).
- Factores intangibles:
 - Costes emocionales y psicológicos.
 - Calidad de vida de los pacientes y cuidadores.

Se calcula que en España, el coste medio anual por paciente con enfermedad de Alzheimer se aproxima a los 19.000 euros. Este coste es debido a los cuidados que precisa un paciente con una enfermedad discapacitante, y que determinan en mayor medida los costes del gasto sanitario, que se extienden no sólo al propio paciente sino también a los familiares dedicados al cuidado del enfermo.

En este contexto, la grave preocupación médica, sanitaria y social, ha generado un esfuerzo investigador que trata de esclarecer su etiología y sobre todo busca alternativas terapéuticas a esta grave enfermedad.

La EA es la causa más común de demencia a partir de los 65 años. Es una enfermedad neurodegenerativa-progresiva, altamente incapacitante y con pocas posibilidades de tratamiento una vez que han comenzado sus manifestaciones clínicas. Existe una pérdida neuronal que conlleva a una disminución en el número de sinapsis neuronales y alteraciones en las vías de comunicación interneuronal.

Clínicamente se manifiesta por un deterioro cognitivo y trastornos conductuales caracterizados por la pérdida progresiva de la memoria y de otras capacidades mentales, como afasia, apraxia, agnosia y alteraciones de la función ejecutiva, conforme progresa la pérdida neuronal y aparecen zonas cerebrales atrofiadas. La afectación en las distintas zonas no ocurre a la vez ya que existen zonas cuya afectación es temprana, entre ellas, el lóbulo temporal medial (MTL) y especialmente la Formación del Hipocampo (FH) y singularmente la corteza entorrinal (CE). Estas regiones cerebrales son cruciales en el procesamiento de la memoria episódica.

Todos los cambios clínicos antes descritos realizan un diagnóstico de probabilidad, pero el diagnóstico definitivo de la EA se realiza después de la muerte del paciente, con la búsqueda en el cerebro de ovillos neurofibrilares o placas neuríticas con proteína beta-amiloide, donde se evidencia la muerte neuronal, por lo que mientras el paciente vive tan solo se puede hablar de posible o probable Alzheimer. Es por todo ello que los nuevos métodos de diagnóstico de Alzheimer cobran una importancia notable.

Aunque el diagnóstico definitivo se realizará postmortem, como ya se ha comentado, el objetivo hoy en día es su diagnóstico de sospecha en los pacientes a partir de los 60 años. Todos los métodos que se están desarrollando junto con las baterías de test neuropsicológicos, por ejemplo las determinaciones de proteína Tau en líquido cefalorraquídeo, la determinación de la carga amiloide con tomografía por emisión de positrones (PET) son aplicaciones útiles pero de momento más limitadas. Además son métodos utilizados una vez que ha comenzado los síntomas clínicos. Además también existen técnicas que nos permiten ver la funcionalidad a través de patrones dinámicos.

La dinámica del flujo cerebral a través de una resonancia funcional (RMf) permite la evaluación no invasiva de la actividad neuronal durante la realización de una tarea. De esa manera se pueden detectar zonas hipofuncionales en tareas experimentales que supongan una activación de esas áreas.

Uno de los métodos que se puede utilizar con el paciente *ex vivo* son los de imagen, concretamente las imágenes de resonancia magnética (RM). Este método nos permite ver las imágenes de la corteza cerebral y poder evaluar, no sólo su aspecto general, sino también, poder aplicar métodos de volumetría que puedan darnos una orientación sobre el volumen de aquellas zonas que son más sensibles a la aparición de la EA, como es la CE en particular y todo el LTM. Otra ventaja de las imágenes de RM es que tenemos la posibilidad de realizar distintos planos de corte en función de cuál pueda ser la más favorable para el estudio de la zona que necesitemos.

Si realizaran estudios de screening en personas mayores de 60 años, se podrían detectar cambios en estadios iniciales de la enfermedad, incluso sin clínica, y podrían servir como orientación hacia un estudio con otro tipo de técnicas más específicas orientadas al diagnóstico de la EA para así poder iniciar el tratamiento precoz de la misma. Por esta razón la evaluación volumétrica en estos pacientes es de gran utilidad.

Nadie sabe exactamente qué hace que comience el proceso de la EA o por qué algunos de los cambios normales asociados con el envejecimiento se vuelven más extremos y destructivos en los pacientes con la enfermedad. Y aunque el curso de la EA no es el mismo en todos los pacientes, los síntomas se desarrollan generalmente en las mismas etapas.

Existe un acuerdo general de que en la EA una de las primeras zonas afectadas es la CE, ubicada cerca del hipocampo y con conexiones directas a éste.

La progresión de la enfermedad sigue el patrón de conectividad de éstas áreas y lo siguiente que se afecta es el hipocampo, estructura esencial para la formación de los recuerdos a largo plazo. La pérdida neuronal lleva consigo una desconexión entre las áreas que va a tener consecuencias visibles a nivel clínico como la pérdida de memoria donde el MTL va a jugar un papel crucial.

El lóbulo temporal medial contiene áreas como la CE o la FH propiamente dicho, cuya integridad funcional es necesaria para el procesamiento de aquellas situaciones que nos suceden cada día y que se almacena como memoria a largo plazo. La CE proporciona la mayor parte de la información de entrada hacia el Hp, a través de la vía perforante. Pero el hipocampo no solo está implicado en los procesos de memoria sino que también envía y recibe información tanto de áreas corticales como subcorticales que ayudarán a la consolidación de esa memoria. La región parahipocámpica es una zona de corteza cerebral que rodea a la CE y al Hp y que engloba a la corteza temporopolar, perirrinal, y parahipocámpica posterior.

Todas estas áreas están comunicadas entre sí y de todas ellas, la que más se está estudiando en la actualidad es la CE. El hecho de que sea precisamente en esta región donde comiencen las manifestaciones más acusadas de la patología neurodegenerativa de la EA, y siga su propagación siguiendo sus vías de conexión, hace que su localización, delimitación de las áreas circundantes y la estimación volumétrica, *in vivo*, sea tan importante.

Como los cambios volumétricos en esta zona suceden en una etapa temprana, la evaluación de esos volúmenes nos dará una idea de la afectación de la zona.

1.4. Deterioro Cognitivo Leve (DCL) como indicador precoz de EA.

En la EA los primeros cambios cerebrales probablemente comienzan de 10 a 20 años antes de que cualquier señal se haga evidente y aparezcan los síntomas.

En estos estadios es posible utilizar terapia farmacológica, ya que en los últimos años los avances realizados en la investigación con fármacos para la EA, permite ofrecer a estos pacientes algunas alternativas terapéuticas que, a pesar de necesitar afrontar muchos retos, modifican significativamente el curso evolutivo de su enfermedad, retrasando su evolución.

A pesar de ello, se estima que en España de los 500.000 pacientes con EA sólo reciben tratamiento farmacológico algo más de un 10%, ya que existe un gran número de enfermos en estadios avanzados para los cuales no existe medicación apropiada y también que los fármacos utilizados hasta el momento no están exentos de múltiples efectos adversos.

Por todo ello, los sistemas de salud tanto públicos como privados se verían beneficiados del uso de herramientas que adelantasen y facilitasen el diagnóstico de la EA, aumentando el tiempo en que el paciente puede

mantener una calidad de vida aceptable y reduciendo por tanto su costo asistencial.

Este coste asistencial crece de forma exponencial a medida que la enfermedad progresa, y es por esto que toda terapia encaminada a enlentecer la progresión puede repercutir beneficiosamente en los costes de la misma.

El DCL es un término emergente que abarca el estado clínico entre el anciano normal y la demencia. Ésta es la razón por la que sería un estado óptimo para tratar al paciente y por ello se escogieron para nuestro estudio casos de pacientes sanos (controles) y también de sujetos que se encontraban en los primeros estadios de la EA, es decir, sujetos con DCL.

En el campo del DCL, uno de los retos de la investigación actual es definir con precisión el número y tipos de perfiles o subperfiles con que se presenta dicho síndrome y su estabilidad, o ausencia de la misma, a lo largo del tiempo, así como llegar a estandarizar los criterios para detectarlo [14]. Una vez que se hubo considerado insuficiente el partir de un único tipo de DCL, el amnésico (DCLa) [15], los trabajos en este campo describen actualmente desde dos entidades únicamente: DCL amnésico y no amnésico [16], hasta cuatro, pues incluyen el DCL difuso y el mixto [17].

Algunos autores mantienen sin embargo [18], que el DCL no es un síndrome bien definido y que las personas que son incluidas en el mismo cambian cada año de categoría diagnóstica y no tiene el poder predictivo de conversión a la EA que se le atribuye.

Necesariamente el poder desafiar los retos anteriormente citados supone contar con buenos instrumentos de evaluación del DCL y por tanto se impone el aplicar las pruebas de evaluación neurocognitiva más adecuadas, acompañadas, siempre que sea posible, por pruebas de imagen cerebral.

2. OBJETIVOS

1º Definición de los límites de las distintas áreas de estudio sobre las RM. Estas áreas son: corteza temporopolar, entorrinal, perirrinal, hipocampo, amígdala y corteza parahipocámpica posterior.

2º Estimación volumétrica de las distintas áreas que componen el lóbulo temporal medial y su relación con el desarrollo de la EA.

3º Desarrollo de una herramienta semiautomática de estimación volumétrica de áreas cerebrales sobre imágenes de resonancia, que con el entrenamiento de un experto, pueda ser utilizado por los servicios de radiología para la estimación de las áreas del lóbulo temporal medial, más relacionadas con el deterioro cognitivo.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo forma parte de un proyecto de investigación multicéntrico dentro del Plan Avanza (2009-2011) denominado “Herramientas de Procesado de Imágenes para la Detección Temprana de Alzheimer y otras Demencias” (TSI-020110-2009-362) financiado por el ministerio de Industria, Turismo y Comercio. Se presenta como un proyecto de investigación industrial en el ámbito de la salud y bienestar social cuyo objetivo es el desarrollo de sistemas y herramientas relativas a sistemas clínicos.

El diseño del proyecto (Alz-Tools) se basa en un estudio piloto para el desarrollo de herramientas semiautomáticas útiles para la estimación de signos de atrofia cerebral en casos clínicos de sospecha de EA, sobre imágenes de RM.

Como estudio piloto que es, la muestra de la que se dispone está un tanto limitada en número de casos. Se trabajó sobre 8 pacientes a los que se les realizó una caracterización neuropsicológica previa y, de los cuales, se obtuvieron imágenes de RM en dos momentos diferentes de su evolución, con una diferencia de año y medio entre ambas RM.

El diseño del estudio es prospectivo y longitudinal cegado por terceros, en el que realizamos el análisis de la volumetría de FH y corteza cerebral que rodea al hipocampo, denominada Región Parahipocámpica (RPH), ya que se ha comprobado que estas áreas cerebrales sufren cambios más precoces en la enfermedad de Alzheimer y, consecuentemente, una atrofia visible en imágenes de RM [19] [20].

La volumetría de estas áreas pertenecientes al MTL, ha demostrado ser una de las técnicas más precisas hasta la fecha en la detección de la EA y otras demencias.

Para llevar a cabo un proyecto de esta envergadura ha sido necesario mezclar disciplinas tan diferentes como la salud y la tecnología. Por ello el estudio se disgregó en tres paquetes de trabajo coordinados entre sí:

- El grupo dedicado a la obtención de las imágenes de RM y recogida de la caracterización neuropsicológica de los sujetos. Para la obtención de dicho material se contó con la colaboración del Departamento de Psicología de la Universidad Nacional de Educación a Distancia (UNED).
- El grupo encargado de la definición de los límites de las distintas áreas de estudio sobre las RM, grupo en el que trabajábamos en conjunto el Departamento de Anatomía de la Facultad de Medicina de Castilla La Mancha y el Departamento de Anatomía de la Titulación de Fisioterapia de la Escuela de Estudios Sanitarios de la UPNA, donde he realizado mi labor como ayudante de proyecto de investigación.
- El grupo de elaboración de las herramientas informáticas para la detección de los cambios volumétricos del MTL. (Dentro de la UNED el Grupo SIMDA= Grupo de Sistemas Inteligentes: Modelado, Desarrollo y aplicaciones. Grupo compuesto por investigadores del Departamento de Inteligencia Artificial de la E.T.S.I. Informática).

3.1. Selección de la muestra

La selección del material clínico fue una tarea primordial para que los diferentes paquetes técnicos pudiesen trabajar con elementos significativos y útiles.

Esta tarea consistió en seleccionar y validar todo el material clínico que pudo resultar útil, discriminando la información poco relevante y se puso especial cuidado en la selección de las resonancias magnéticas. Esta recogida de los datos fue realizada por psicólogos de la facultad de Psicología de la UNED (componentes del equipo de investigación).

Los participantes, todos ellos procedentes de municipios de la zona Noroeste de la Comunidad Autónoma de Madrid, provenían de una consulta de geriatría donde acudieron para conocer su estado cognitivo. Se insertó un anuncio en los Centros de Mayores sobre investigaciones de este tipo que se pretendían llevar a cabo, para lo cual se contó con la colaboración de las Concejalías de Sanidad y Asuntos Sociales de los Ayuntamientos de estos municipios y sus asistentes sociales.

Los criterios de inclusión de los participantes fueron: a) tener entre 65 y 90 años (excepcionalmente se aceptaron sujetos menores de 65 años) ; b) ausencia de trastorno psiquiátrico, enfermedad crónica discapacitante o enfermedad neurodegenerativa; c) ausencia de alteración cognitiva de importancia, tales como afasia, agrafia, alexia y/o apraxia; y d) ausencia de algún tipo de deficiencia sensorial severa.

Para este estudio, el interés por conocer el perfil neuropsicológico de los sujetos, radica en que las funciones cognitivas son las más representativas del compromiso cortical en la enfermedad de Alzheimer.

A todos los voluntarios que se apuntaron se les informó de las pruebas a las que se les iba a someter , la gratuidad de las pruebas, así como los beneficios que se podían obtener de la participación en la investigación, tales como una evaluación neuropsicológica minuciosa y el seguimiento de la evolución de su estado cognitivo.

Para la inclusión en la muestra, a los participantes se les solicitó la firma de un consentimiento informado donde se recogían los objetivos del estudio, sus derechos y la confidencialidad de los resultados (consultar el anexo).

Una vez firmado el consentimiento, se comunicaba al sujeto la duración de la sesión (aproximadamente de 1 hora y 45 minutos) y se le proporcionaba una información general sobre las tareas que se le iba a pedir que realizara. A continuación, se realizaba la entrevista dividida en dos partes. En la primera se recogían los datos personales y sociodemográficos y en la segunda se registraban los datos médicos. Se le preguntaba también sobre algunos hábitos de vida, como el grado de consumo de alcohol y tabaco. A continuación se pasaba la batería neuropsicológica.

Entre los distintos laboratorios de neuropsicología, existen diferencias respecto a las técnicas específicas a utilizar en la creación de un perfil cognitivo, pero también es cierto que existe un amplio consenso respecto a las funciones que deben ser evaluadas. Estas serían: la inteligencia general, memoria, atención,

lenguaje, visuopercepción, visuopercepción, visuopercepción, razonamiento, abstracción y funciones ejecutivas.

A continuación, se describen brevemente las escalas de evaluación de funciones cognitivas administradas a los sujetos del estudio, registradas por los expertos en neuropsicología de la UNED:

1. Mini examen Cognoscitivo (MEC) [21]. Test que corresponde a la adaptación española del Mini-mental State Examination (MMSE). Esta prueba es un método muy utilizado para detectar el deterioro intelectual que abarca cinco funciones cognitivas superiores: orientación, retención, atención y cálculo, memoria y lenguaje. Su práctica toma únicamente entre 5 y 10 minutos, por lo que es ideal para aplicarse en forma repetida y rutinaria.

2. Test de Aprendizaje Verbal España-Complutense (TAVEC). Subprueba: Recuerdo libre inmediato (lista B) [22]. Prueba de memoria y aprendizaje verbal que consta de tres listas de palabras: una lista de aprendizaje, una de interferencia y una de reconocimiento. Las dos primeras listas tienen dieciséis palabras que se utilizan para evaluar el aprendizaje y el recuerdo a corto y largo plazo; la lista de reconocimiento, está formada por 44 palabras.

3. Fluidez semántica: categoría de animales, subtest de la batería (EMSDA, Evaluación de la Memoria Semántica en pacientes con Demencia tipo Alzheimer) [23].

4. Comprehensive Trail-Making Test (Parte B) [24]. Es conocido en español como test de construcción de secuencias o test de senderos, originariamente formó parte de los test de habilidades mentales generales de la Armada de los EE.UU.

La prueba consta de dos partes (A y B) aunque para este trabajo sólo se utilizó la parte B. En ella el sujeto debe conectar círculos numerados y círculos con letras que están distribuidos al azar sobre una hoja. Se le pide al sujeto que una con líneas de modo alternado números y letras. Los números según el orden numérico correcto y las letras según el orden del alfabeto.

5. Calidad de la Figura de Rey [25]. Evalúa la actividad perceptiva y la memoria visual a través del proceso de copia y de reproducción de memoria de una figura geométrica compleja, sin significado aparente.

6. Praxias Ideomotoras. Subtest del Test Barcelona. Mide la capacidad de reconocer y ejecutar gestos y acciones motoras ante una petición verbal.

De toda esta muestra se eligieron 8 participantes de edades comprendidas entre los 63 y los 86 años. El número de hombres fue 5 y el de mujeres 3, siendo la edad media de los hombres 77.2 y la de las mujeres 74.6. La media de años de escolaridad de los hombres fue 8.4 y la de mujeres 10.3.

También se les realizaron a cada sujeto dos RM de 3 Teslas con un intervalo que osciló entre un año y medio / dos años.

La clasificación “Tesla” hace referencia a la intensidad del campo magnético, y en general, cuanto mayor sea la intensidad de campo mejor será la calidad de la imagen.

A continuación se presenta el resumen de los datos sociodemográficos obtenidos de los 8 participantes (Tabla 1):

(Tabla 1) Información sociodemográfica de los 8 sujetos

Sujetos	Sexo	Edad (Año nacimiento)	Escolaridad en años	Perfil cognitivo a lo largo 3 años
1	mujer	1923	0	DCL estable (DCLna/DCLna/DCLna)
2	mujer	1938	9	DCL inestable (DCLna/DCLna/sano)
3	Varón	1939	2	DCL estable (DCLm/DCLm/DCLna)
4	Varón	1927	3	DCL inestable (DCLa/sano/DCLa)
5	Varón	1924	3	Sano (Sano/Sano/Sano)
6	Varón	1935	16	Sano (Sano/Sano/Sano)
7	Varón	1939	18	DCL inestable (DCLa/DCLm/sano)
8	mujer	1945	22	Sano (Sano/Sano/Sano)

El resultado de las baterías de test neuropsicológicos nos permitió agrupar a los pacientes en dos grupos, según el perfil cognitivo recogido en los resultados:

1. Sujetos sanos.
2. Sujetos con DCL

El criterio establecido para determinar si un sujeto presentaba DCL o no, fue que su rendimiento fuese deficiente en, al menos, dos de las pruebas aplicadas. Dichos pacientes incluidos dentro del grupo de DCL fueron, a su vez, subdivididos en tres subgrupos:

1. DCL amnésico (DCLa): rendimiento deficiente en al menos dos pruebas del TAVEC.
2. DCL mixto: rendimiento deficiente en alguna prueba del TAVEC y al menos en otra prueba.
3. DCL no amnésico (DCLna): rendimiento deficiente en dos pruebas o más, pero ninguna del TAVEC.

Esta subdivisión resulta interesante ya que la tasa de conversión a EA en individuos con DCL amnésicos es mayor (48,7%) que en los no amnésicos (26,8%), según uno de los últimos trabajos sobre las tasas de conversión a la demencia [26].

La evaluación cognitiva de todos los pacientes se repetía con una periodicidad anual a lo largo de tres años. Esto nos permitió subdividir a los sujetos con DCL en dos categorías: estable o inestable. El criterio que se siguió para definir la estabilidad o inestabilidad de un sujeto fue que permaneciese estable en su categoría diagnóstica en las distintas evaluaciones cognitivas realizadas anualmente.

En relación con la variable sociodemográfica que registra los años de escolaridad (tabla 1), simplemente mencionar que es una variable de interés a la hora de pasar la batería de test neuropsicológicos y no se ha usado como dato predictivo de conversión a EA.

Una vez realizada la caracterización de la muestra y las imágenes de RM, se realizó una labor de anonimización de los sujetos del estudio y se cegó a los grupos encargados de la segmentación y volumetría de las áreas de estudio en el sentido pasando los casos a denominarse con una letra. Disponemos de 16 RM que se enumeraron desde la letra A a la P (tabla 2).

(Tabla 2) Nomenclatura utilizada para las imágenes de RM sobre las que se realizaba la segmentación manual.

1º resonancia (2008)	2º resonancia (2010)
La MRI O ----	corresponde con la ---- MRI A
La MRI H ----	corresponde con la ---- MRI B
La MRI C ----	corresponde con la ---- MRI F
La MRI N ----	corresponde con la ---- MRI E
La MRI D ----	corresponde con la ---- MRI J
La MRI K ----	corresponde con la ---- MRI I
La MRI M ----	corresponde con la ---- MRI G
La MRI P ----	corresponde con la ---- MRI L

3.2. Metodología en la segmentación manual.

En el presente proyecto, tanto para realizar la segmentación de las áreas de estudio sobre RM como para la estimación volumétrica, se utilizó el programa 3DSlicer®, que es la herramienta sometida a mejora y semiautomatización. Éste programa fue el escogido porque su uso está muy arraigado en las consultas de psicogeriatría y lo que pretendemos desarrollar es una herramienta práctica y eficaz, que ofrezca un buen alcance para la población en general. Debemos tener en cuenta que el desarrollo de estas herramientas tendrá como usuario último el médico que ha de valorar el estado cognitivo del paciente para indicarle así el tratamiento apropiado.

Antes de comenzar la segmentación manual de las imágenes de RM, estas deben ser procesadas primero por Free-Surfer®, un programa gratuito disponible en la Web que realiza una delimitación automática de diferentes estructuras neuroanatómicas del cerebro humano basándose en un atlas anatómico cerebral obtenido del promediado de un conjunto de cerebros etiquetados manualmente. El programa Free-Surfer® es capaz de diferenciar las distintas zonas de sustancia gris que conforman la corteza cerebral basándose sobre todo en el análisis de la morfología que ofrecen las RM, y comparando las similitudes con las estructuras anatómicas que reconoce a través de la información del atlas. Los resultados de la delimitación del Free-Surfer® se obtienen de una forma mucho más rápida que con la segmentación manual, pero únicamente nos proporciona una estimación aproximada general, ya que actualmente no es una técnica excesivamente precisa y suele presentar limitaciones como son las sobreestimaciones en la región del hipocampo [27]. Además de esto, hay regiones que esta herramienta no es capaz de reconocer

como son el cortex entorrinal, perirrinal o parahipocámpico y de ahí que se requiera la determinación manual de las diferentes regiones del MTL, ya que hasta la fecha, no se dispone de ninguna herramienta automática capaz de hacerlo.

Con este proyecto lo que pretendemos es explorar las ventajas de complementar la segmentación automática de Free-Surfer® con una segmentación manual de la HF y el LTM para obtener una evaluación más exacta de estos centros de la memoria.

Teniendo en cuenta todo esto, lo primero que se tuvo que hacer fue disponer de los equipos informáticos necesarios, realizar la instalación de los programas y entornos informáticos necesarios y ganar experiencia en el manejo de estos programas, todo ello para poder segmentar y etiquetar las distintas partes sometidas a estudio.

Al principio, se tuvieron que realizar ciertas variaciones informáticas, ya que el funcionamiento del programa que utilizamos (3DSlicer®), era inestable sobre todo en un entorno Windows, pero conseguimos solucionarlo al trabajar en un entorno Linux.

Aunque el programa nos ofrecía una distancia entre cortes de 0,5 mm decidimos no segmentar todos los cortes. Como se recoge en el protocolo que hemos seguido (que está descrito más adelante), y debido al tamaño de las estructuras en estudio, consideramos suficiente realizarlas cada 2 mm. Por esta razón se creó un fichero que tenía borradas las segmentaciones intermedias (3 slices) para ayudar en la segmentación manual aunque se seguían visualizando, posibilitándonos así su edición si lo deseábamos. De esta forma segmentábamos cada cuatro imágenes (delimitando una imagen y pasando tres sin segmentar), y así sucesivamente hasta completar cada caso. El programa 3DSlicer® contiene una opción que permite crear el volumen segmentado en 3 dimensiones. Los 3 cortes que dejamos sin segmentar son deducidos por el programa que los rellena para calcular posteriormente su volumen.

En la actualidad distintos trabajos han realizado varios protocolos que intentan dar pautas para poder delimitar las zonas adecuadamente poniendo en relación la longitud de un elemento que es posible evaluar en imágenes, como puede ser el surco colateral. Uno de los más conocidos y utilizados es el de Insausti et al. [28]. Estos estudios están basados en el desarrollo de una técnica volumétrica sobre imágenes de RM, en cortes coronales, combinando el análisis neuroanatómico con las imágenes de RM obtenidas en el mismo plano, generalmente coronal. Para la creación de este protocolo [28], se examinó una biblioteca de preparaciones histológicas de 48 casos de autopsia comparándola con RM de 52 voluntarios sanos, con los que el equipo neuroanatómico delimitó la extensión de la HF y MTL.

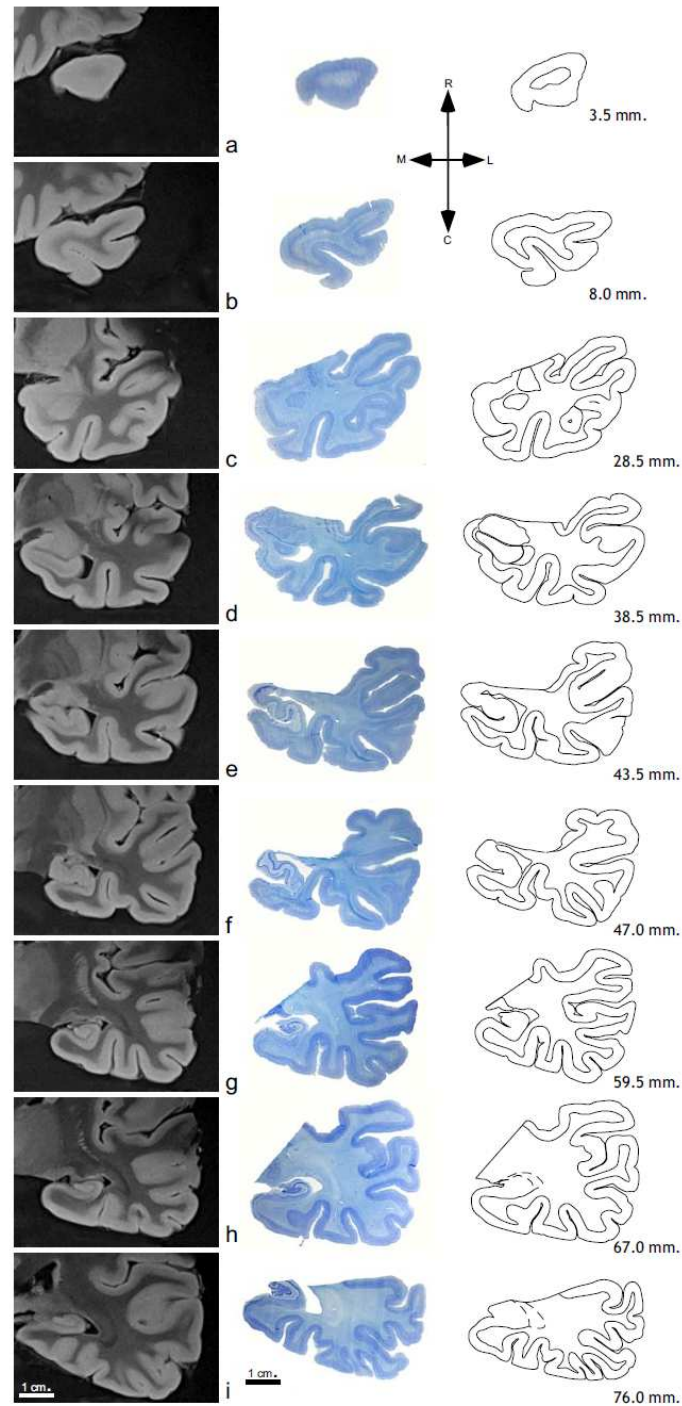
El equipo que creó el protocolo, es un grupo de investigación que durante años ha realizado estudios sobre la morfología en el lóbulo temporal medial y tiene

experiencia en la segmentación de la zona y el reconocimiento de las áreas. Sus estudios han seguido diferentes fases, desde una parte más anatómica (caracterizando las zonas tanto a nivel morfológico macroscópico como microscópico), hasta la traslación de esas características a imágenes de resonancia.

Por todas estas razones, nos basaremos en dicho protocolo para definir los límites de segmentación de CE, PRC y TPC, ampliándolo con criterios para la segmentación de la PPH (puesto que su delimitación no está descrita en dicho protocolo).

A continuación, en la figura 1 se expone un ejemplo del desarrollo de la serie correlativa de imágenes de RM y del estudio neuroanatómico seriado de las mismas regiones, correspondiente a un caso control.

(Figura 1) A la izq. RM de 3 Teslas del MTL de un caso control. Al lado se representan las series neuroanatómicas reales correspondientes a las mismas zonas, sobre las que se establecieron los límites de la HF y MTL. A la dcha. dibujos de las diferentes secciones indicando las distancias de estos cortes con respecto al polo temporal.



3.3. Definición de los límites de segmentación.

Basándonos en el análisis de la serie histológica realizada por Insausti et al. [28], definiremos hasta donde se extienden los límites de las distintas áreas corticales que son objeto de nuestro análisis.

Para realizar la segmentación sobre las imágenes de RM, las diferentes áreas del cerebro deben ser identificadas y diferenciadas a través de una serie de etiquetas que se exponen a continuación (tabla 3):

(Tabla 3) Etiquetas de las áreas cerebrales segmentadas manualmente.

<u>Hemisferio Izq.</u>			<u>Hemisferio Dcho.</u>		
1	Left-Cerebral-Exterior		40	Right-Cerebral-Exterior	
2	Left-Cerebral-White-Matter		41	Right-Cerebral-White-Matter	
3	Left-Cerebral-Cortex		42	Right-Cerebral-Cortex	
17	Left-Hippocampus		53	Right-Hippocampus	
18	Left-Amygdala		54	Right-Amygdala	
188	Left-PPH		183	Right-PPH	
189	Left-ab		184	Right-ab	
190	Left-TPC		185	Right-TPC	
191	Left-EC		186	Right-EC	
192	Left-PRC		187	Right-PRC	

Como se puede observar en la tabla 3, las etiquetas utilizadas para segmentar un hemisferio y otro, son de diferentes colores. El proceso de etiquetado de estas zonas, nos sirve para crear posteriormente los resultados volumétricos de cada región, y cabe destacar, que cometer un error en el etiquetaje de un área modificaría los resultados volumétricos que vamos a obtener. De ahí la importancia de prestar gran atención a la hora de delimitar todas las regiones.

A continuación, (figura 2) se presenta un resumen esquemático de los puntos de referencia anatómicos creados por Insausti et al. [28], para delimitar los contornos de las cortezas temporopolar, perirrinal y entorrinal sobre imágenes de RM coronal. Cabe destacar que en este protocolo no están recogidos los límites de la corteza parahipocámpica posterior, amígdala e hipocampo.

El diseño de los diferentes cortes se obtuvo de imágenes de RM (de 2 mm de espesor sobre el plano coronal) de un paciente sano. La numeración de los diferentes cortes va del 1 al 24, aunque el esquema sólo muestra las imágenes de los puntos críticos de referencia y faltan por tanto algunos cortes que no vienen representados.

El color rojo indicará la corteza entorrinal, el verde perirrinal, y el azul temporopolar.

Los puntos de referencia que hay que tener en cuenta en el esquema son los siguientes:

En el corte nº 1= Surco temporopolar (ps).

Corte nº 4= Surco temporal inferior (its); Límite lateral de la CTP (*)

Corte nº 9= El surco colateral (Cs) que marca la transición entre CTP y PRC.

Corte nº 10= A nivel de limen de la ínsula (punto de unión entre lóbulo temporal y frontal), el límite dorsomedial de la PRC se acerca medialmente hacia el giro parahipocámpico.

Corte nº 11= Marca el inicio de EC, un corte después de la aparición de limen de la ínsula. EC, se extiende medialmente hasta el surco *semianularis* (ssa).

Corte nº 14= Amígdala (A).

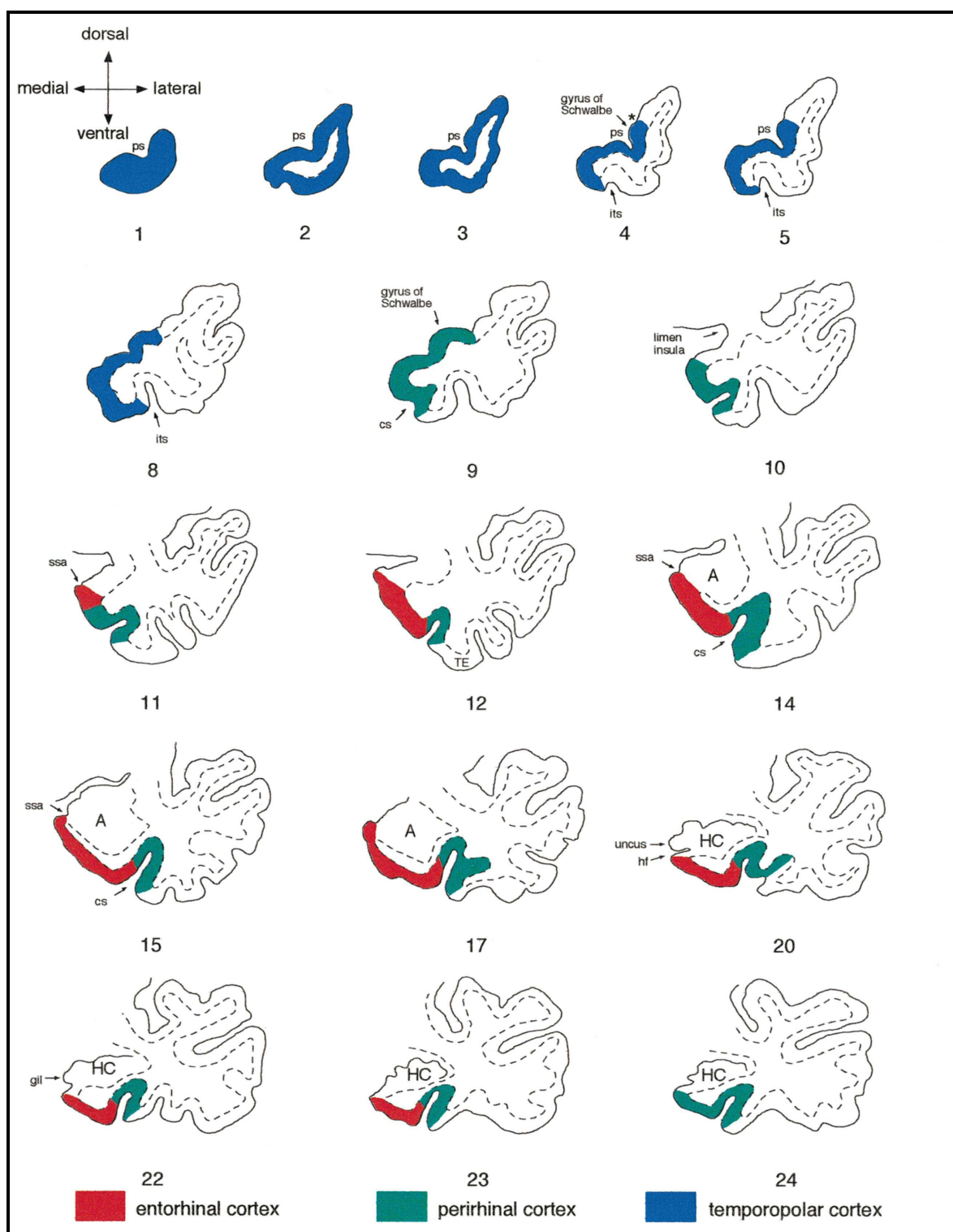
Corte nº 20= Hipocampo (H), uncus (gancho terminal de la circunvolución del hipocampo y fisura hipocámpica (hf)

Corte nº 22= Se puede ver el giro intralímbico (gil) ubicado en la región final del uncus.

Corte nº 23= En el corte anterior finaliza el uncus y en este se pone fin a EC.

Corte nº 24= PRC se extiende caudalmente un corte más.

(Figura 2) Esquema de los puntos de referencia anatómicos para delimitar MTL.



3.4. Estimación volumétrica del cortex.

Actualmente existen varias técnicas para estudiar la anatomía del cerebro. La más simple, todavía se considera como *gold standard* en el entorno clínico y como ya hemos mencionado antes, es la volumetría. Los estudios de volumetría, tanto manuales como semiautomáticos, requieren la delimitación o segmentación de las regiones de interés. La delineación manual ha sido utilizada en muchos de los estudios de volumetría basados en RM del hipocampo tanto para estudios longitudinales como transversales [29, 30 y 31].

Existe un gran interés por el uso y desarrollo de herramientas automáticas de neuroanatomía computacional sobre imágenes de RM que puedan dar datos fácilmente extraíbles sobre la volumetría de distintas zonas de interés en el estudio del envejecimiento y las enfermedades neurodegenerativas como en la tasa de conversión en EA durante un intervalo concreto de seguimiento [32].

Aunque es un método preciso, la volumetría manual es un método muy laborioso y requiere un profundo conocimiento de la zona, tanto a nivel neuroanatómico como en la identificación de las regiones sobre las imágenes, lo que dificulta enormemente su uso en grandes estudios y ensayos clínicos.

Por esta razón, se han desarrollado varias técnicas semiautomatizadas [33 y 34] y otras técnicas que se consideran totalmente automatizadas y que utilizan información estadística y espacial para segmentar varias estructuras del hipocampo [35].

En nuestro estudio, una vez realizada la segmentación manual de los diferentes casos, las imágenes de RM fueron remitidas al grupo encargado de la elaboración de las herramientas informáticas para la detección de los cambios volumétricos del MTL. (UNED).

Dentro de la UNED, el grupo que participó en el estudio fue el SIMDA, que se trata de un equipo investigador centrado en el modelado y desarrollo de aplicaciones en medicina utilizando técnicas de Inteligencia Artificial. Ellos fueron los encargados de obtener los resultados de la estimación volumétrica (para calcular la disminución del volumen de las áreas corticales del MTL).

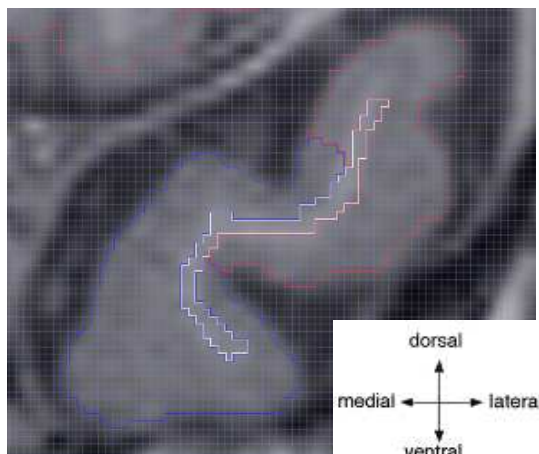
Esta estimación volumétrica sobre imágenes de RM se puede realizar mediante distintos métodos: semiautomáticos o estereológicos (manuales).

Uno de los métodos manuales más utilizado es la estereología. Consiste es un método insesgado de estimación volumétrica que permite cuantificar el volumen de diferentes estructuras, independientemente de su forma. Para poderla llevar a cabo, la muestra a medir debe cumplir algunos requisitos previos. Debe ser uniforme y con un comienzo aleatorio. Luego se aplican fórmulas matemáticas basadas en la probabilidad geométrica (área/ volumen) y

nos dará el volumen del espécimen a estudio. A estos datos se les aplican métodos estadísticos para ver si los resultados son significativos o no.

En cambio, para el cálculo volumétrico de este estudio, se utilizó un proceso totalmente automático donde solo se analizaron las etiquetas pertenecientes al lóbulo temporal medial. El cálculo de los volúmenes de cada estructura, se realizaba utilizando un modulo específico dentro del programa Slicer®, en nuestro caso con el panel "volumetry and statistics", (ya que Slicer® tiene otros módulos donde se pueden calcular las estadísticas de todas las etiquetas). Esta herramienta para el cálculo de volúmenes a partir de una segmentación previa de las regiones de interés, se denomina morfometría basada en vóxeles, cuyas siglas en inglés son, (VBM) Voxel-Based Morphometry. La palabra vóxel es la unidad cúbica que compone un objeto tridimensional y sería el equivalente del píxel en un objeto 3D. (Figura 3).

(Figura 3) Imagen de RM donde se representan los vóxeles (cubos), necesarios para el cálculo volumétrico.



El programa informático que utiliza esta técnica de análisis de neuroimagen (VBM), se basa en contar el número de vóxeles de una determinada etiqueta (zona anatómica que se ha delimitado previamente por el experto), para calcular el volumen de esa región.

4. RESULTADOS

Los resultados obtenidos con este estudio se dividen en 3 diferentes partes:

- 4.1. Desarrollo y mejora del protocolo creado por Insausti et al. [28].
- 4.2. Análisis de las variaciones volumétricas del estudio longitudinal.
- 4.3. Mejora de las herramientas semiautomáticas de segmentación de la corteza del MTL.

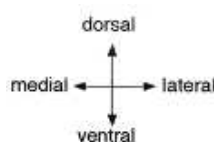
4.1. Desarrollo y mejora del protocolo creado por Insausti et al. [28].

En este sentido, se han conseguido determinar los límites de la región parahipocámpica, del hipocampo y la amígdala reconocibles a nivel de imágenes de RM en nuestra serie, contrastándolos con la determinación de las series neuroanatómicas de Insausti et al. [28] de las mismas regiones, y fijar aquellos elementos macroscópicos que pueden ser reconocibles en las imágenes y que pueden ser a su vez delimitadores de esas áreas.

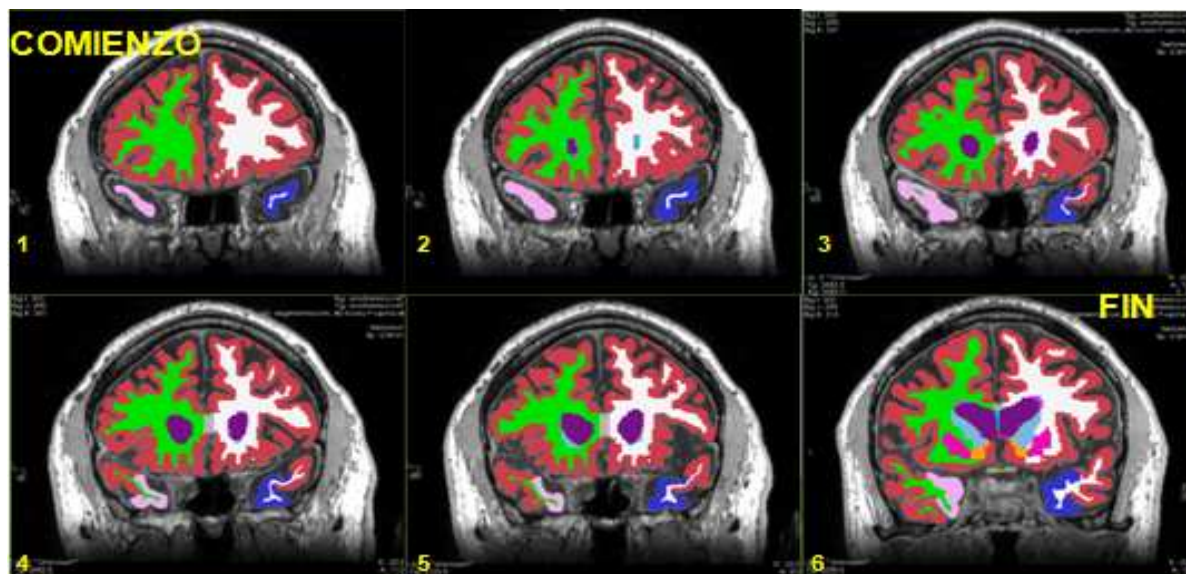
Con ello hemos desarrollado un protocolo de segmentación de la totalidad de las regiones de interés, fundamentalmente con el objeto de consensuar los límites de todas las regiones de interés, para facilitar así la menor variabilidad posible inter-observador.

Para realizar una descripción gráfica de la segmentación manual de cada una de las zonas, se adjuntan a continuación imágenes de RM segmentadas para el presente proyecto, (las imágenes corresponden a uno los sujetos que participó en el estudio, el caso F, aunque no está representada toda la serie de RM, sino una selección de ciertas imágenes). En esta descripción que se presenta a continuación, también se reflejan los límites marcados en este proyecto para la corteza parahipocámpica posterior, amígdala e hipocampo.

Las imágenes que están enfocadas con el zoom, recogen las estructuras del lóbulo temporal medial del lado izquierdo del paciente y para facilitar la interpretación de las mismas, en todas ellas nos basaremos en las siguientes coordenadas a la hora de describir los límites:



CORTEZA TEMPOROPOLAR (TPC)



La TPC cubre la porción anterior del lóbulo temporal y se encuentra rostral a la PRC siendo la primera que nos encontramos al comenzar el lóbulo temporal.

Se extiende en longitud entre 7 y 9 cortes de 2 mm de espesor entre ellos. Terminará con la aparición del surco colateral en la porción inferior y lateral.

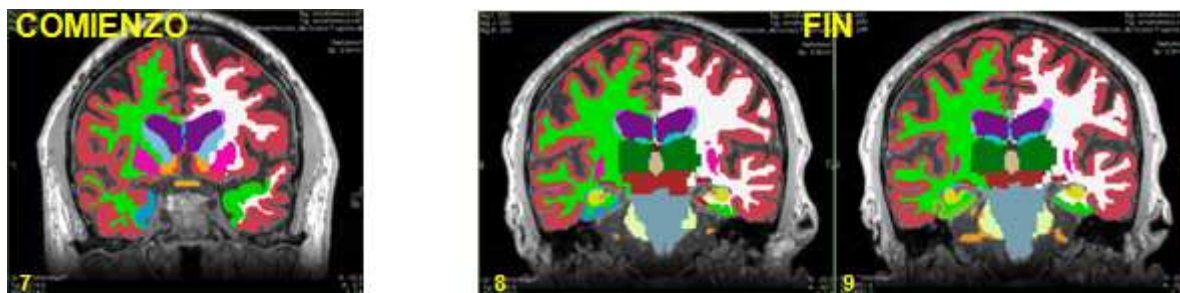
Comienzo: Desde el primer corte donde aparece corteza del lóbulo temporal (1), toda la sustancia gris que encontramos anterior al 4º corte, se considera TPC. En este 4º corte (4), surge el surco temporal inferior sirviéndonos a partir de aquí de límite lateral de la TPC:

Límite inferior: hasta el labio medial del surco temporal inferior

Límite superior: hasta las circunvoluciones trasversas de Schwalbe. Este límite coincide con la zona medial del borde superior de corteza temporal. Cuando existe una sola se pone el límite en el borde del labio lateral de esa circunvolución de Schwalbe

Fin: Un corte antes de la aparición de la PRC, es decir, antes de que surja el surco colateral y/o se divida en dos la sustancia blanca que lo rodea (6). En ocasiones esta división se presenta antes de la aparición del surco y también se acepta como límite.

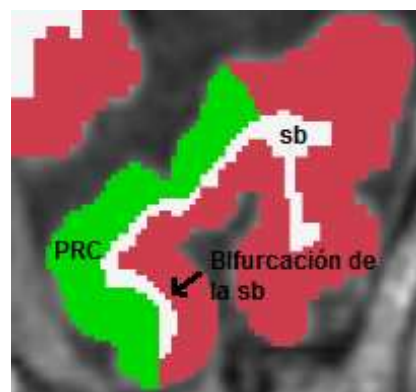
CORTEZA PERIRRINAL (PRC) Está representada con el color verde.



Comienzo: Con el inicio del surco colateral comienza la PRC (7). Como la morfología de los surcos cerebrales tiene variaciones, para cerciorarnos de que se trata de este surco, se realizaba la comprobación en los cortes siguientes en dirección dorsal donde ya estaba claramente establecido. La aparición de dicho surco colateral suele darse al mismo tiempo que el limen de la ínsula ó 1-2 cortes rostrales a éste. El limen de la ínsula por lo general suele surgir a 2.5 cm del polo temporal.

Ha habido casos en que la corteza perirrinal comienza sin ser evidente la presencia del surco colateral. En estos casos, se puede observar como la sustancia blanca se abre en forma de dos porciones, rodeando una sustancia gris algo más alta. En la siguiente imagen (2mm más dorsal), es en esa zona donde se abre el surco colateral. El cambio morfológico de la corteza sin embargo comienza a la vez que la bifurcación de la sustancia blanca, hecho comprobado en las series histológicas.

(Figura 4) Ejemplo de un caso donde se da el comienzo anticipado de PRC donde también se representan: sb (sustancia blanca) y la bifurcación de la sb.



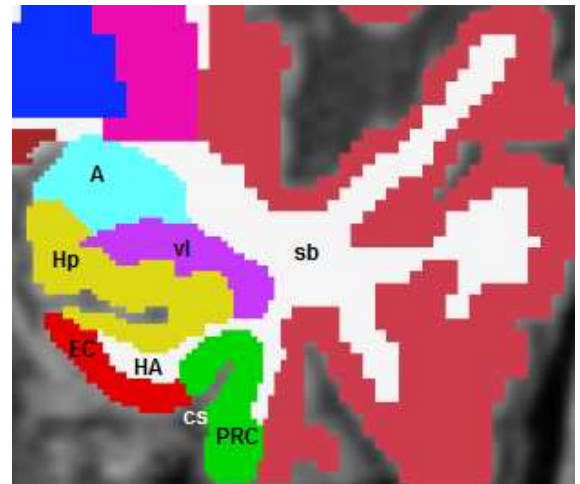
Límite inferior: hasta el labio lateral del surco colateral, con las especificaciones de variabilidad interindividual relacionadas directamente con su profundidad.

Límite superior: a) hasta las circunvoluciones trasversas de Schwalbe, si el surco colateral se da antes que el limen de la ínsula.

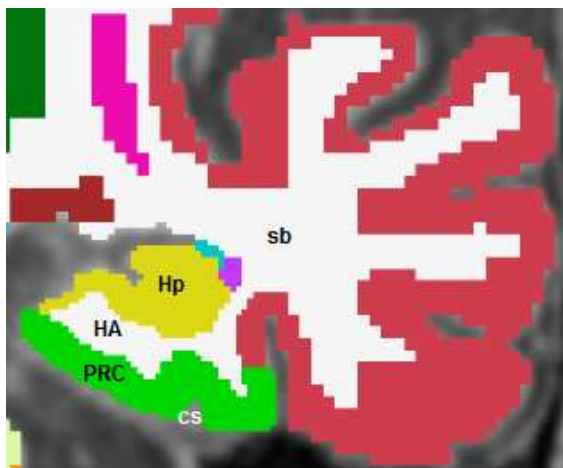
b) hasta la inflexión del *gyrus ambiens* si ya ha emergido el limen de la ínsula antes de la aparición del surco colateral. Acercamos así en este caso el límite perirrinal superior a una zona más medial.

En resumen, se considera PRC a la región que rodea el surco colateral.

(Figura 5) Imagen de un PRC con un surco colateral (cs) normal, donde se representan también: A, EC, Hp, HA, vl (ventrículo lateral), sb (sustancia blanca) y cs (surco colateral).

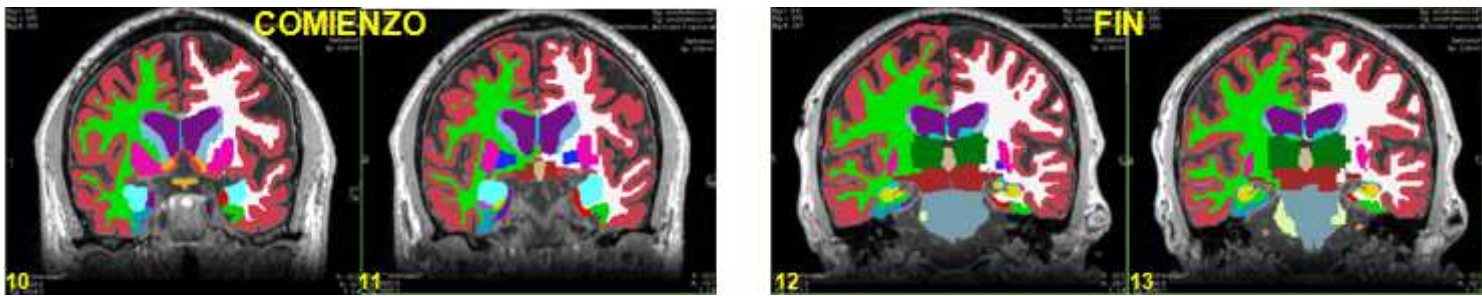


Fin: Correspondería a un corte antes de la aparición de la corteza parahipocámpica posterior. El corte siguiente al que desaparece el uncus, sería el último corte de la CE y en el siguiente a éste, la zona que ocupaba CE es sustituida por la PRC donde realizaría su última aparición (8 y 9).



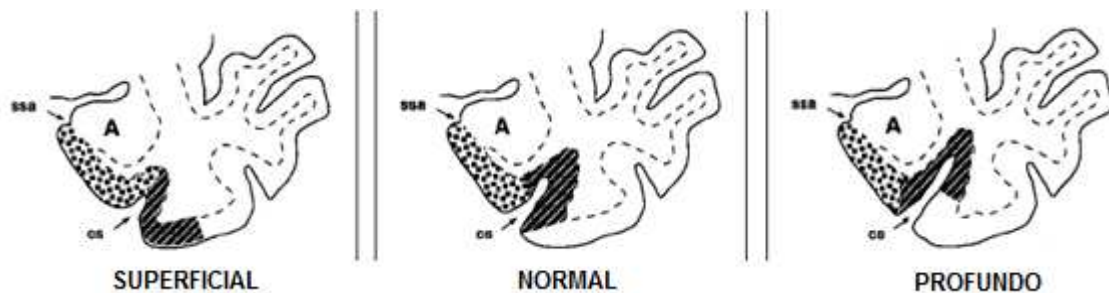
(Figura 6) Imagen del último corte de PRC después de la desaparición del uncus, donde se representan también: Hp, HA, sb (sustancia blanca) y cs (surco colateral).

CORTEZA ENTORRINAL (EC)



Comienzo: El siguiente corte después de aparecer limen de la ínsula marca el comienzo de la CE, que empujará a la PRC a una posición más lateral en su límite superior (10).

La mitad más dorsomedial (más cerca del limen) es CE y la región de corteza que rodea al surco colateral es perirrinal. Este surco colateral puede tener tres morfologías: superficial, aquel que tiene menos de 1 cm, normal, entre 1-1.4 cm, y profundo, mayor de 1.5 cm y la variabilidad interindividual del límite lateral de la EC la determina la profundidad de dicho surco.



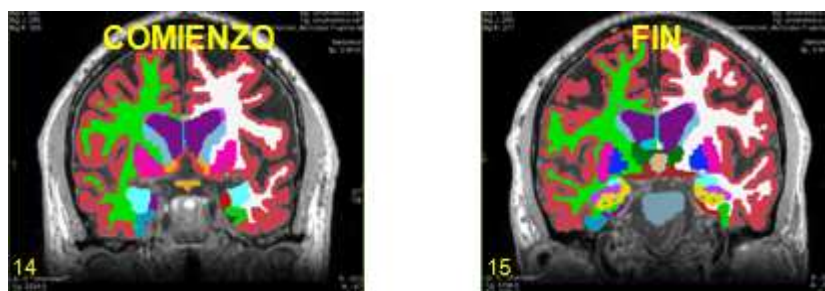
Límite lateral:

a) En el primer corte en el que surge la CE, marcamos el límite inferior o límite lateral de CE en un punto intermedio de la corteza que queda entre el surco colateral y el gyrus ambiens (10).

b) En los siguientes cortes, la CE queda limitada lateralmente por el labio medial del surco colateral. Si el surco colateral es pequeño, el análisis histológico que realizaron Insausti et al. [28] reveló que la CE se extendería hasta la mitad del surco colateral (11).

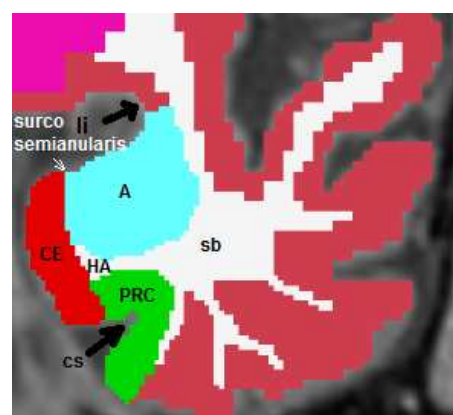
Fin: El corte siguiente al que desaparece el uncus del hipocampo (12-13), sería el último corte de la CE, volviendo a marcar el límite inferior o límite lateral de CE en un punto intermedio (más dorsal), antes de llegar al surco colateral.

AMIGDALA (A) Está representada en color azul.

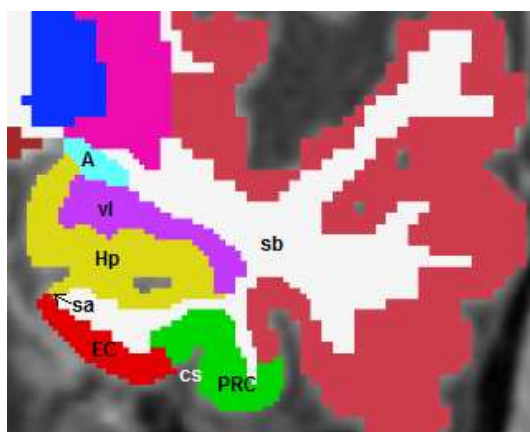


Comienzo: En el corte siguiente donde aparece por primera vez la CE, damos comienzo a la amígdala. Abarcará desde el límite superior de la CE, que la separará de la superficie cerebral, y ocupará la porción más medial del lóbulo temporal y se extenderá cranealmente hasta sobrepasar el limen de la ínsula (14). En su porción más lateral, limitará con la sustancia blanca de esa zona.

(Figura 7) Comienzo de la Amígdala (A), donde se representan también: surco semianularis, CE, PRC, HA (haz angular), li (limen de la ínsula), sb (sustancia blanca) y cs (surco colateral).



Fin: En cuanto aparecen las digitaciones del hipocampo y el surco *semianularis*, el hipocampo se coloca sobre la corteza entorrinal e irá rechazando la amígdala quedando así el límite inferior más craneal. Esta elevación se reforzará con la aparición del haz angular. Desaparece finalmente al surgir el cuerno anterior del ventrículo lateral (15).



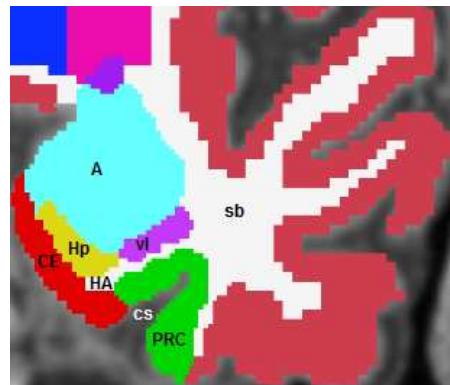
(Figura 8) Final de Amígdala (A), donde se representan también: EC, PRC, HA, vi (ventrículo lateral), sb (sustancia blanca), sa (surco semianularis) y cs (surco colateral).

HIPOCAMPO (HP) Está representado en color amarillo.



Comienzo: Surge en el corte siguiente a la aparición a nivel de lóbulo temporal del espacio ventricular lateral (16). En esa zona se observa una prominencia en la pared medial e inferior del cuerno inferior del ventrículo. Esta prominencia está causada por las digitaciones del hipocampo (una serie de circunvoluciones que se presentan a este nivel y nos ayudan a diferenciarlo). A la parte inicial del HP se le denomina la cabeza del hipocampo y se localiza alrededor de 1 cm posterior al inicio de CE.

(Figura 9) Comienzo del hipocampo (Hp), donde se representan también: A, CE, PRC, HA, vl (ventrículo lateral), sb (sustancia blanca) y cs (surco colateral).

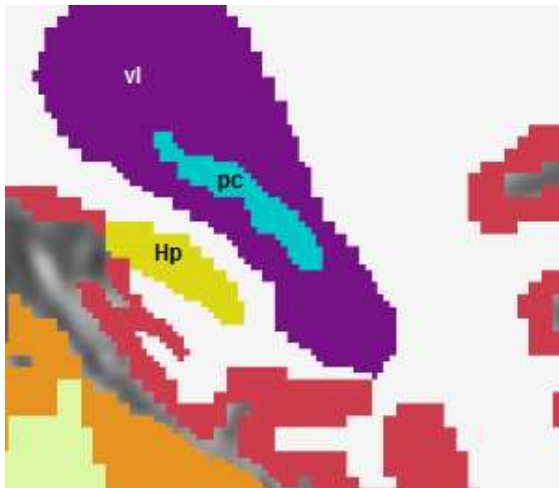
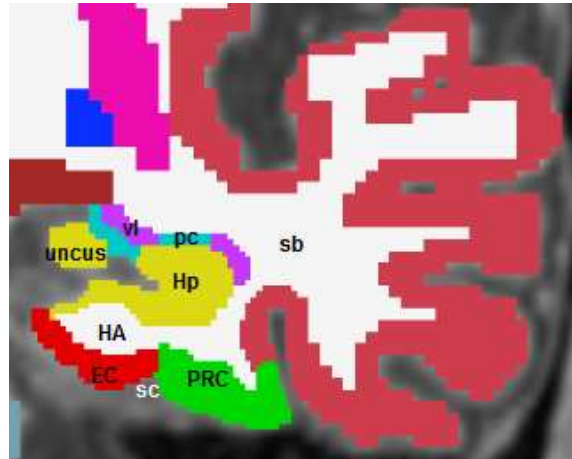


Límite superior: Quedará inferior al ventrículo lateral y a la amígdala hasta que esta desaparezca.

Límite inferior: Encontramos el complejo subicular zona perteneciente al complejo del HP, compuesto por el subículo, presubículo y parasubículo quedando entre propiamente el HP y la CE. La corteza entorrinal va a quedar separada del hipocampo por la interposición del haz angular que es la principal vía de salida de la información generada en el complejo entorrinal, hipocampo y corteza perirrinal.

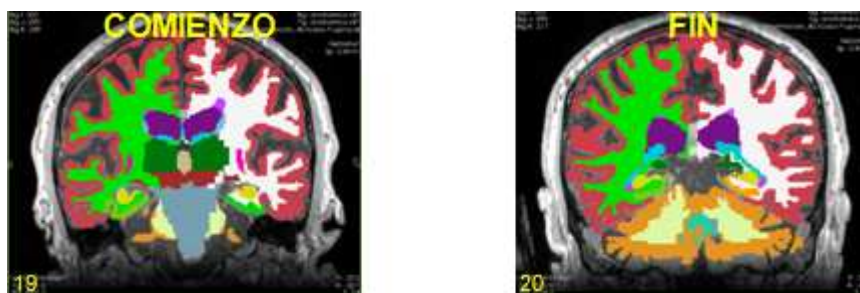
Fin: A medida que nos alejamos de las regiones más rostrales, el HP se va acortando y adquiriendo una forma más redondeada. El giro intralímbico aparece al final de la cabeza del hipocampo (17). Cuando desaparece el uncus (gancho terminal de la circunvolución del HP) podemos dar por desaparecida la EC. La terminación del HP se da con la presencia del esplenio del cuerpo calloso (18).

(Figura 10) Final del uncus donde se observan también las siguientes estructuras: hipocampo (Hp), EC, PRC, HA, vl (ventrículo lateral), pc (plexos coroideos), sb (sustancia blanca) y sc (surco colateral).



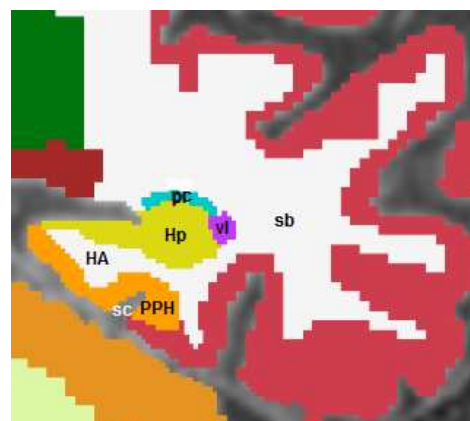
(Figura 11) Final del Hipocampo donde se representan también las siguientes estructuras: hipocampo (Hp), vl (ventrículo lateral) y pc (plexos coroideos).

CORTEZA PARAHIPOCAMPICA POSTERIOR

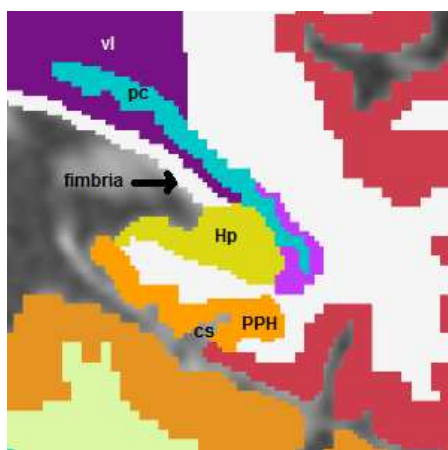


Comienzo: En el corte siguiente a la finalización de PRC (19). Comenzaría en el tercer corte después de la desaparición del uncus. Se extendería desde el *gyrus ambiens* hasta el labio lateral del surco colateral. Dentro del mismo, la profundidad a la que termina la corteza va a variar en función de la propia profundidad del surco colateral. Se han mantenido la diferenciación de la profundidad de los surcos la recogida en el trabajo de Insausti [28] de tal manera que, si el surco colateral es poco profundo, la corteza parahipocámpica finalizará en el labio lateral. Si tiene una profundidad normal, entre 1-1,4 cm acabará en la mitad entre ese labio lateral y el fondo del surco. Si es muy profundo, más de 1,5 cm marcaremos el final de la corteza en el fondo del surco.

(Figura 12) Comienzo de PPH donde se observan también las siguientes estructuras: hipocampo (Hp), HA, vl (ventrículo lateral), pc (plexos coroideos), sb (sustancia blanca) y sc (surco colateral).



Fin: A nivel más dorsal finalizaría con la aparición del surco calcarino y/o la fimbria (20). La corteza parahipocámpica se va alejando del *gyrus ambiens* y se interpondrá la aparición del surco calcarino. Se va a disponer en la profundidad del surco colateral en su mayoría. Esa zona va a ser reemplazada por corteza retrosplenial.



(Figura 13) Final de PPH al aparecer la fimbria, también se representan las siguientes estructuras: hipocampo (Hp), vl (ventrículo lateral), pc (plexos coroideos) y cs (surco colateral).

Por otro lado, con la idea de obtener un registro uniforme de la secuencia de estructuras del lóbulo temporal medial, se diseñó una plantilla en la que se anotaban el comienzo y final de las áreas sometidas a estudio. Esta plantilla contiene los elementos que permiten identificar la extensión longitudinal de las distintas áreas. Se puede observar un ejemplo de esta plantilla en la Figura 14.

(Figura 14) Ejemplo de plantilla de registro de los límites de la corteza del LTM.

CASE IDENTIFICATION

<u>Section</u>	<u>Begining</u>	<u>End</u>	<u>Comments</u>
317 / 293	Begining TPC	End TPC	
289 / 237	Begining PRC	End PRC	
289	Limen insulae		
285 / 241	Begining EC	End EC	
265 / 245	Begining Head Hippocampus	End Head Hippocampus	
245	Gyrus. Intralimbicus		
233 / 213	Begining PPH	End PPH	

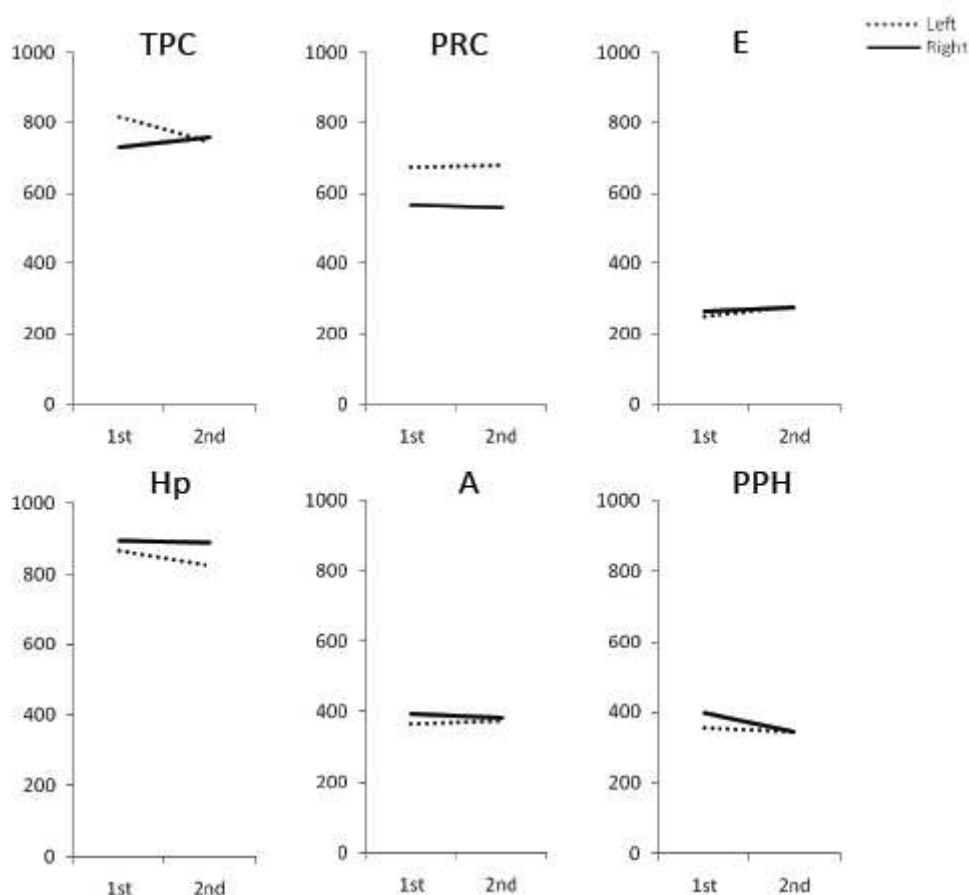
La numeración que se plasmaba en esta plantilla y que usábamos para realizar el registro, no correspondía a los cortes reales sino que era una numeración que obteníamos del propio programa y que nos servían para movernos con facilidad por los diferentes casos.

4.2. Análisis de las variaciones volumétricas del estudio longitudinal.

Tras realizar la integración de los documentos aportados por parte de los tres paquetes de trabajo, se utilizó la tabla de resultados de las diferencias volumétricas y se contrastó con los distintos perfiles cognitivos de la muestra. Se observó que de los 8 casos sometidos a estudio, se obtenían estos resultados:

En los casos controles así como en los pacientes con DCL no amnésico, los valores volumétricos se conservaron, mientras que los sujetos con DCL amnésico (categoría que presenta mayor tasa de conversión a EA, [26]) mostraron una disminución volumétrica en las estructuras de HF y MTL.

(Figura 15) Histograma de la variación de volumen en un caso de DCL amnésico, entre la primera y segunda RM.



Por otro lado, en tres de los ocho casos estudiados, se repitió la segmentación por parte del mismo experto en dos momentos diferentes del estudio, para comprobar así las diferencias intraobservador.

Los resultados obtenidos de las diferencias volumétricas intraobservador, fueron los siguientes:

(Figura 16) Diferencias volumétricas (%) entre las diferentes estructuras del MTL

	Intra Observer
Temporopolar cortex	4.3
Perirhinal cortex	5.4
Entorhinal cortex	5.6
Hippocampus	13.1
Amygdala	18.1
Parahippocampal cortex	6.3

4.3. Mejora de las herramientas semiautomáticas de segmentación de la corteza del MTL.

El poder crear un método automático de delimitación del lóbulo temporal medial (MTL), sería la mejor herramienta de diagnóstico precoz de la EA que podríamos poner a disposición de los diferentes profesionales que tengan relación con ella.

Aunque existen intentos para segmentar de forma automática todo el cerebro (como Free-Surfer®), los resultados no son del todo satisfactorios en términos de precisión y reproducibilidad. El éxito no excede el 90% [36] en estructuras subcorticales y es aún menor cuando se enfoca a las estructuras del MTL [37].

Desafortunadamente, todavía no disponemos de métodos automáticos lo suficientemente robustos y la metodología de nuestro estudio necesitaría desarrollarse aún más para poder crear una automatización completa de las herramientas utilizadas.

En la actualidad, los procedimientos más precisos para la delimitación de la corteza del MTL sobre imágenes de RM, son manuales [27 y 28]. Cuando la segmentación se trata de un procedimiento manual, es de esperar que conlleve una fuerte carga de tiempo de análisis por parte del experto, para poder segmentar de forma ligeramente subjetiva (dada la variabilidad de los contornos cerebrales) las estructuras de interés del MTL.

Al no disponer de herramientas puramente automáticas, el uso de métodos semiautomáticos nos proporciona una solución intermedia con la ventaja de tener la velocidad y la fiabilidad de los métodos de segmentación automática, bajo la supervisión del experto.

En este estudio se proponen dos métodos semiautomáticos orientados a hacer más fácil y rápida la delineación de las estructuras del MTL. En ambos casos, Free-Surfer® se utilizará para obtener una segmentación inicial automática de muchas de las estructuras cerebrales que será refinada posteriormente.

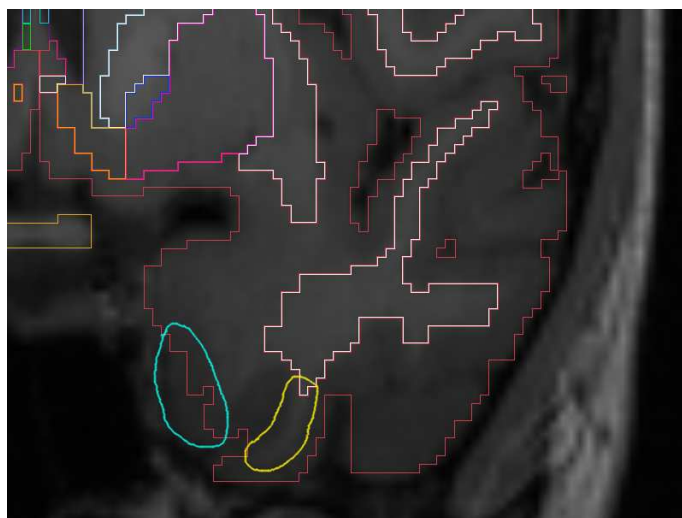
El primer método está pensado para ayudar al trazado manual de las estructuras del MTL por parte de experto, mientras que el segundo método semiautomatiza el procedimiento descrito por Insausti et al. [28], y requiere una intervención menor por parte de los expertos, sólo para confirmar los principales puntos en los que se basa el algoritmo.

MÉTODO A

Uno de los problemas más comunes después de la segmentación automática obtenida por Free-Surfer®, es la presencia de zonas mal etiquetados.

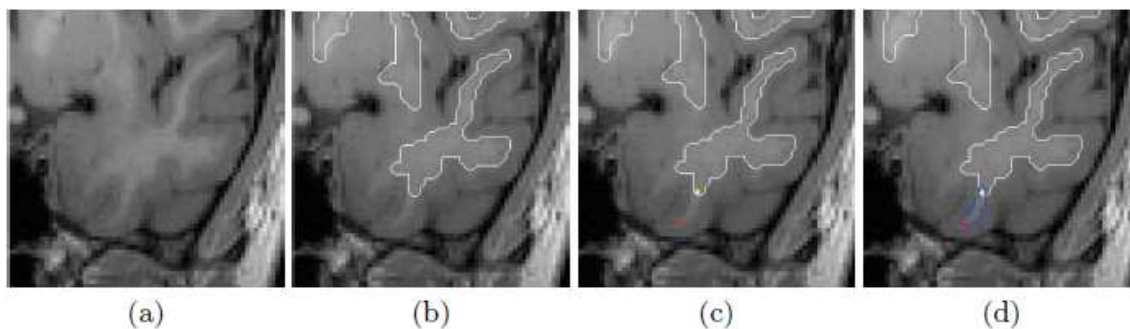
Por ejemplo, como se muestra en la Figura 7, la sustancia blanca debería haberse extendido más ampliamente en el área rodeada por amarillo y la sustancia gris también debe extenderse más en el área rodeada por el azul.

(Figura 17) Problemas de segmentación por parte del programa Free-Surfer®.



Con el fin de afinar esta segmentación del Free-Surfer®, y obtener resultados más sólidos, se ha perfeccionado una herramienta para mejorar el seguimiento manual de MTL. A este operador se le ha denominado con Extend-WM.

(Figura 18) Ejemplo del uso del operador Extend-WM: (a) RM sin segmentar, (b) segmentación inicial con Free-Surfer®, (c) configuración del operador, (d) mejora de la segmentación de Free-Surfer®.

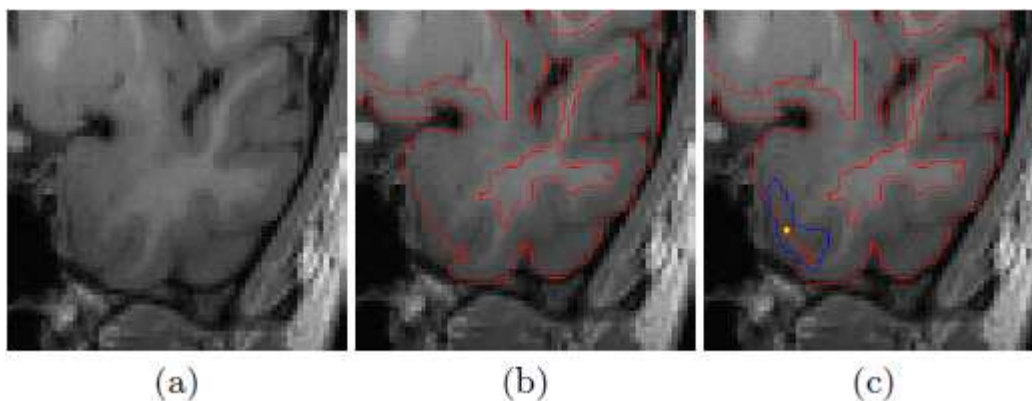


La Figura 8 muestra los resultados después de aplicar el operador de Extend-WM. Este método corrige los errores antes mencionados del Free-Surfer® pero con todo y con ello, el experto debe identificar igualmente los límites del MTL, ya que este programa no los reconoce.

MÉTODO B

Este método realiza una parcelación automática de las estructuras corticales del lóbulo temporal medial, basándose en el protocolo descrito por Insausti et al. [28].

(Figura 19) Ejemplo del uso del operador Extend-GM: (a) RM sin segmentar, (b) segmentación inicial con Free-Surfer®, (c) región de MTL segmentada de forma automática.



A este operador se le denomina como Extend-GM.

Aún no es un método muy robusto ya que una vez segmentadas las estructuras con este operador, deben ser validadas por un experto que identifique correctamente los límites del MTL, ya que esta herramienta ha mostrado tener errores que todavía están por perfeccionar.

Publicaciones relacionadas

Se han llevado a cabo dos publicaciones en relación con el proyecto Alz-tools.

1- Free-Surfer automatic brain segmentation adaptation to medial temporal lobe structures: volumetric assessment and diagnosis of mild cognitive impairment. (Springer-Verlag Junio 2011). R. Insausti, M. Rincón, E. Díaz, E. Artacho-Pérula, F. Mansilla, J. Florensa, C. González-Moreno, J. Álvarez-Linera, S. García, H. Peraita, E. Pais and A.M. Insausti.

2- Semiautomatic Segmentation of the Medial Temporal Lobe Anatomical Structures (Springer-Verlag Junio 2011). M. Rincón, E. Díaz, F. Alfaro, A. Díez-Peña, T. García-Saiz, M. Bachiller, A. Insausti and R. Insausti.

Ambas publicaciones fueron presentadas en el Fourth International Work Conference on the Interplay Between Natural and Artificial Computation (IWINAC).

Presentación de futuros proyectos

A continuación, se describen brevemente los proyectos relacionados con Alz Tools que han sido solicitados a lo largo de este año.

Alz Tools2

El proyecto consistiría en la “Implantación de un sistema automático en el diagnóstico de enfermedades neurodegenerativas”. La finalidad de este proyecto sería el desarrollo de un sistema piloto que se instalaría en determinados centros del Servicio de Salud de Castilla-La Mancha (SESCAM) de modo que pudiera ser evaluado y validado como sistema automático de ayuda al diagnóstico de enfermedades neurológicas, singularmente enfermedades neurodegenerativas causantes de demencia, como por ejemplo la enfermedad de Alzheimer, basándose en la utilización de diferentes técnicas de procesamiento de imágenes médicas.

Subvención solicitada al Fondo de Investigación Sanitaria (FIS)

Se ha presentado al FIS el siguiente proyecto relacionado con Alz Tools: “Valoración del haz angular en el deterioro cognitivo leve y la enfermedad de Alzheimer”

Resumen= La EA se caracteriza por la neurodegeneración precoz de partes de la FH y la CE. Todas son fundamentales en el procesamiento de la memoria, un síntoma precoz en la EA. Ya desde Cajal quedó establecido que el Hp recoge la información de la CE a través de fibras que caminan por el Haz Angular (HA) y modula la actividad cortical a través de la CE. Partiendo de la hipótesis de que la muerte y desaparición de las neuronas de la CE es un indicador precoz de la EA, lo que pretendemos determinar con este estudio es el papel del HA en la EA.

En el momento actual se están realizando muchos estudios volumétricos sobre imágenes de resonancia, estimando la disminución en las áreas corticales con distintos métodos: semiautomáticos o estereológicos. Indudablemente, la pérdida neuronal que se produce va a dar este tipo de cambios. Pero no solamente la sustancia gris sufre modificaciones en la EA, también la sustancia blanca lo hace. Existen muy pocos trabajos donde se estudien los cambios que se producen a este nivel. Cómo evolucionan los haces, en concreto, el haz angular (HA) con la evolución de la enfermedad, si las alteraciones son a la vez o la estructura se mantiene más tiempo que la corteza y su alteración es más tardía.

El primer objetivo de este estudio será encontrar diferencias volumétricas en el HA que puedan ser previas a la aparición de clínica, determinada con test neuropsicológicos, y ser utilizado como signo mensurable para factor diagnóstico y pronóstico en la evolución de la EA.

La metodología del mismo se divide en varias fases: primero se caracterizará la extensión del HA en series histológicas de grupos control y EA, la relación con las áreas vecinas y con los surcos a nivel macroscópico. Se complementará con determinaciones inmunohistoquímicas y una volumetría estereológica. Posteriormente se segmentará el HA en imágenes de RM en pacientes caracterizados clínicamente con test neuropsicológicos. Se hará una segmentación semiautomática con la herramienta Alz-Tools. Después compararemos la estimación volumétrica semiautomática con la estereológica, para ver si existen diferencias en la sensibilidad para la detección de cambios en el volumen del HA, y de su posible asociación con los ítems neuropsicológicos.

5. DISCUSIÓN

En este estudio longitudinal, uno de los principales objetivos planteados era la definición de los límites de las distintas áreas de la corteza del lóbulo temporal medial.

Como ya antes hemos mencionado, la delimitación manual de estas estructuras cerebrales, no resulta una tarea sencilla puesto que no existe un consenso a la hora de pautar los límites de las diferentes estructuras.

Para la realización de este estudio nos hemos basado principalmente en el protocolo de delimitación más conocido, que es de Insausti et al. de 1998 [28], (sobre el que existen 332 citas bibliográficas). Aunque en la actualidad, existen más trabajos en los que se dan pautas diferentes para la segmentación del MTL [38 y 39].

La justificación por la cual se eligió este protocolo fue porque resulta un trabajo muy completo ya que combina el análisis de un amplio número de cerebros sobre los que se realizó el análisis pormenorizado a nivel histológico de la zona. Sobre esa experiencia, se realizaron los análisis de las imágenes de RM.

Es ya conocido que entre los diferentes sujetos, existe mucha variabilidad morfológica de los surcos y circunvoluciones cerebrales, lo cual dificulta el poder dar unas pautas fijas a la hora de segmentar la corteza cerebral. Creemos que una siguiente fase de este estudio sería recoger casuística de las diferencias morfológicas entre los individuos. Hemos podido comprobar que no es infrecuente que se presenten dos surcos colaterales que en pocos cortes llegan a fusionarse, o la bifurcación de la sustancia blanca a nivel temporopolar previamente a la aparición del surco colateral. Ello llevaría a poder definir los criterios para las mismas y así poder incorporar estos datos a una biblioteca, con la que crearíamos un atlas sobre el que fundamentar el método.

En este protocolo se recoge la variabilidad interindividual del límite lateral de la EC y el comienzo de la PRC donde el elemento determinante es la profundidad del surco colateral, elemento fácilmente reconocible a nivel macroscópico.

En cambio, en el sistema creado por Goncharova et al. en 2001 [38] (sobre el que solamente existen 36 citas bibliográficas), se propone que el límite lateral de la CE no se base en la profundidad del surco colateral sino que hay que fijarlo en un punto, en el borde medial del surco colateral. Debido a la simplicidad de este método para limitar las áreas, se ha tomado como base para algunas herramientas semiautomáticos de cuantificación. Con estos criterios los volúmenes resultantes de la CE son menores que con el método de Insausti porque no se tiene en cuenta aquella porción que se introduce en la profundidad del surco, y tampoco está claro el cómo puede influir esta infraestimación en el volumen real.

Existe otro tercer método, descrito por Honeycutt et al. 1998 [39] (sobre el que se pueden encontrar 37 citas bibliográficas), que lleva el límite lateral de la CE al fondo del surco, sin tener en cuenta la variabilidad individual. Esto lleva a una sobreestimación de la misma corteza.

En un proyecto de esta envergadura, es muy importante desarrollar el protocolo de delimitación adecuado para las diferentes regiones cerebrales, ya que los resultados que obtengamos del análisis volumétrico, se generaran en base a esta delimitación, y por consiguiente, son el elemento del que disponemos para correlacionar con la clínica del paciente.

En el presente estudio hemos completado la caracterización de la zona a nivel de imágenes de RM y esto va a posibilitar una mayor precisión en la delimitación de las áreas corticales del MTL.

No obstante, a pesar de disponer de una base robusta sobre la que poder crear una herramienta automática de segmentación, existen varios aspectos a mejorar dentro de este estudio longitudinal:

La muestra de la que disponemos para el estudio piloto (8 sujetos), es muy pequeña para poder obtener cambios volumétricos con una significación estadística. Necesitaríamos ampliar la muestra, para manejar así datos más fiables sobre la variación del volumen del MTL en los primeros estadios de la EA.

Si dispusiéramos de la segmentación de más casos sobre imágenes de RM, podríamos crear a su vez, un atlas anatómico con el promediado de las diferentes estructuras del MTL. De esta forma lograríamos mejorar la segmentación automática que nos ofrece hoy en día el Free-Surfer®.

Aunque, en general, todas las zonas tienen una baja variabilidad interobservador, hemos comprobado que existen zonas donde está más elevada, concretamente para la amígdala y el hipocampo 18,1 y 13,1 respectivamente. Creemos que esto se podría disminuir afinando más el protocolo para las mismas.

La segmentación manual de los casos por parte del experto ha resultado ser una tarea muy laboriosa y pesada, en el sentido que ocupaba mucho tiempo (alrededor de 16 horas por caso). Si queremos que sea un método aplicable debemos disminuir este valor. Es verdad que disminuía el tiempo de delimitación, conforme se iba adquiriendo experiencia en el manejo del programa y en el reconocimiento de los distintos elementos en las imágenes. La incorporación de elementos macroscópicos y reconocibles en las imágenes de RM facilita que el tiempo empleado disminuya. Creemos que el aumento en el número de casos en el que se basa el atlas sobre el que trabaja el programa haría que éste fuera más preciso y supondría un ahorro de tiempo para el usuario.

Otro de los aspectos a mejorar, sería el desarrollo y mejora de las herramientas que ofrece el programa informático utilizado para realizar la segmentación (el 3DSlicer®).

Hemos detectado una serie de limitaciones que nos ofrecía este programa informático y que retrasaban aún más esta tarea de delimitación:

- El programa no nos permitía borrar sobre las regiones segmentadas, puesto que eliminar unos vóxeles dentro de un corte seriado de la RM, suponía la eliminación solapada de vóxeles de los cortes contiguos.
- Existía un mal funcionamiento en general de la herramienta, la cual se bloqueaba y requería reiniciar el programa continuamente.

A pesar de tener solo un caso de paciente con deterioro cognitivo leve de tipo amnésico, se vio que presentaba una disminución volumétrica en esta zona, aunque ésta era mayor en áreas que se ha demostrado que son más sensibles inicialmente como la corteza entorrinal. Además concuerda con los datos recogidos en la literatura, aunque entendemos que no se puedan sacar conclusiones con un único elemento.

Considerando la alta prevalencia de la EA en nuestra sociedad, es de prever que el impacto socioeconómico de proyectos como éste puedan ser muy importantes, una vez se disponga de una herramienta automática para la detección temprana EA, que hasta ahora no existe.

El disponer de esta herramienta, tendría las siguientes consecuencias:

- Se podrían realizar estudios longitudinales fiables, lo que conllevaría una mejor evaluación en la evolución del paciente.
- Estudios transversales, de modo que la probabilidad de una detección temprana sería mucho más fiable.
- Podría ser una herramienta de utilidad en la evaluación de medicamentos que pudieran ser una terapia precoz en la terapia de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias ya que tendríamos una herramienta de estimación volumétrica que complementaría la información neuropsicológica que tendría que seguirse con este tipo de pacientes.

6. CONCLUSIÓN

El protocolo que hemos desarrollado para definir la delimitación sobre imágenes de resonancia para las áreas de hipocampo, amígdala y corteza parahipocámpica posterior completa el que hemos utilizado como base para el estudio

1. En los casos controles así como en los pacientes con Deterioro Cognitivo Leve (DCL) no amnésico, los valores volumétricos se conservaron, mientras que los sujetos con DCL amnésico (categoría que presenta mayor tasa de conversión a enfermedad de Alzheimer) mostraron una disminución volumétrica en las estructuras de formación del hipocampo y lóbulo temporal medial.
2. La metodología desarrollada en este estudio nos parece que puede ser de utilidad en la detección precoz de los cambios volumétricos en pacientes con riesgo de desarrollar la enfermedad de Alzheimer.
3. Dentro del programa se ha trabajado en el desarrollo de dos herramientas: una a nivel de modificación en la delineación de las áreas y otra con la inclusión de datos del protocolo para la correcta parcelación de las áreas en estudio.

7. ANEXO

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

TITULO DEL ESTUDIO:

Estudio de diversos tipos de marcadores en el envejecimiento y en el Deterioro Cognitivo Ligero: Test neuropsicológicos, niveles de cortisol y Resonancia Magnética Estructural. Un estudio longitudinal.

Esta es una investigación que está llevando a cabo la Universidad Nacional de Educación a Distancia (UNED) con la subvención del Ministerio de Ciencia e Innovación. En esta investigación participan solamente las personas que por libre voluntad desean hacerlo.

Le están pidiendo que participe en este estudio porque usted tiene más de 60 años y se encuentra dentro de la franja de edad que queremos estudiar.

¿POR QUÉ SE ESTÁ LLEVANDO A CABO ESTE ESTUDIO?

El propósito de este estudio es evaluar si usted tiene un deterioro cognitivo ligero, asociado a la edad, y en ese caso realizarle una serie de pruebas y un seguimiento posterior que finalizará a los 3 años. De este modo, podremos averiguar la evolución del mismo.

Fase 1 del estudio:

Aplicación, por parte de nuestros psicólogos, de una batería de test de una duración aproximada de 1 hora 30 minutos, para poder así evaluar su estado cognitivo.

Fase 2 del estudio:

Realización de una extracción de sangre por parte de una enfermera en un centro ambulatorio.

Fase 3 del estudio:

Realización de una prueba de neuroimagen en un centro público.

Fase 4 del estudio:

Solicitud de muestras de saliva.

Cada una de las pruebas que se le realizan esta firmada y supervisada por un facultativo especialista que se hace responsable del resultado dado.

Fase 5 del estudio:

Seguimiento durante un periodo de 3 años

¿CUÁNTAS PERSONAS PARTICIPARÁN EN EL ESTUDIO?

Aproximadamente 200 personas participarán en el estudio.

¿CUÁLES SON LAS IMPLICACIONES DEL ESTUDIO?

Si usted participa en este estudio, tendrá que someterse a los exámenes y evaluaciones propuestas en cada una de las fases.

¿POR CUÁNTO TIEMPO PERMANECERÉ EN EL ESTUDIO?

Permanecerá en el estudio durante 3 años.

Usted puede dejar de participar en cualquier momento. Sin embargo, si usted decide retirarse del estudio, le aconsejamos que hable primero con un investigador.

¿RECIBIRÉ ALGÚN BENEFICIO POR PARTICIPAR EN EL ESTUDIO?

Si usted acepta participar en este estudio, obtendrá una evaluación constante de su estado cognitivo por parte de un equipo de médicos neurólogos y psicólogos que le comunicarán los cambios que puedan encontrar en usted.

Este seguimiento no se realiza como protocolo a todas las personas mayores de 60 años en ningún centro de salud.

Asimismo, esperamos que la información que se obtenga como resultado de este estudio beneficie en el futuro a otras personas en su rango de edad que tengan este deterioro asociado a la edad.

CONFIDENCIALIDAD Y PROTECCIÓN DE DATOS

Este proyecto requiere la utilización y manejo de datos de carácter personal que, en todo caso, serán tratados conforme a las normas aplicables garantizando la confidencialidad de los mismos.

POSIBLES INCOMODIDADES Y/O RIESGOS DERIVADOS DEL ESTUDIO

Las pruebas neuropsicológicas no suponen ninguna incomodidad ni riesgo. La prueba de resonancia magnética no tiene ningún riesgo ni efecto secundario. Antes de su realización se le facilitará una hoja de información sobre la prueba para tener la seguridad de que es una persona válida para la realización de la prueba (se excluirán aquellas personas que lleven marcapasos o que recientemente se les haya colocado un sten cardiaco). El proceso estará controlado en todo momento por un técnico que estará presente el tiempo que dure la prueba.

En cuanto a la prueba para medir los niveles de algunos biomarcadores como el cortisol a través de muestras de saliva, esta es inocua y además tiene la ventaja de una mínima invasividad en el sujeto.

¿CUÁLES SON LOS COSTOS?

El participar en este estudio no representará ningún tipo de costo para usted o su compañía de seguros.

¿CUÁLES SON MIS DERECHOS COMO PARTICIPANTE?

La participación en el estudio es voluntaria. Usted puede escoger no participar o puede abandonar el estudio en cualquier momento. El retirarse del estudio no le representará ninguna penalidad.

Nuestro equipo revisará la información de esta investigación a lo largo del estudio. Le tendremos informado acerca de cualquier aspecto que encontremos que pueda afectar su salud, bienestar o deseo en continuar su participación.

¿A QUIÉN DEBO LLAMAR SI TENGO UNA PREGUNTA O UN PROBLEMA?

Para preguntas acerca de la investigación, comuníquese con el investigador _____ en el *tf.* _____

Puede llamar al

DECLARACIÓN DEL PACIENTE

1. Me han explicado y he comprendido satisfactoriamente la naturaleza y objetivos de esta investigación. También me han aclarado todas las dudas y me han explicado los posibles riesgos y complicaciones de las pruebas que me van a aplicar.
2. Doy mi consentimiento para participar en el procedimiento descrito anteriormente.

Participante _____ Fecha _____

FIRMA

Profesional _____ Fecha _____

FIRMA

8. BIBLIOGRAFÍA

1. World Population Ageing (2009). Programa de las Naciones Unidas sobre el Envejecimiento.
2. Haug, H. (1985). Are neurons on the human cerebral cortex really lost during aging? A morphometric examination. J Traber and W.H. Gispen eds., *Senile dementia of the Alzheimer type*. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg. pp.151-163.
3. Terry, R.D., De Teresa, R., Hansen, L.A. (1987). Neocortical cell counts in normal human adult aging, *Ann. Neurol.* 21: 530-539.
4. Haug, H., Kulh, S., Mecke., Sass, N.L., Wasner, K. (1984). The significance of morphometric procedures in the investigation of age changes in cytoarchitectonic structures of human brain. *J. Hirnforsch.* 25: 353-374.
5. Krauss Whitbourne, S. (1985). *The aging body, phisiological changes and psychological consequences*. Springer Verlag.
6. Scoville WB, Milner B (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J. Neurol. Nuerosurg. Psychiatry* 20:11-21
7. Squire LR, Zola_Morgan S (1991): The medial temporal lobe memory system. 253: 1380-1386.
8. Flicker, C., Ferris, S.H., Crook, T., Bartus, R.T., REISBERG, B. (1985). Cognitive function in normal aging and early dementia. J. Traber and W.H. Gispen eds., *Senile dementia of the Alzheimer type*. Springer-Verlag. Berlin pp.2-17.
9. Davison, A.N. (1987). Pathophysiology of ageing brain. *Gerontology* 32: 129-135.
10. Creasy, H., Rapoport, S.I. (1985). Neurological progress. The aging human brain. *Ann. Neurol.* 17: 2-10.
11. Mc Khan, G, Drachman D, Folstein M y col. (1984). Clinical diagnosis of Alzheimer's disease. *Neurology* 34: 939-944.
12. Plum, F. (1979). Dementia: an approaching epidemic. *Nature* 279: 372-373.
13. Bermejo, F. (1987). Epidemiología de la demencia.: revisión del tema y datos en España. *Rev. Clin. Esp. (Supl. 1)* 181: 13-21.
14. Ritchie, K., y Touchon, J. (2000). Mild cognitive impairment: Conceptual basis and current nosological status. *Lancet*, 355, 225-8.

15. Petersen, R.C., Smith, G.E., Waring, S.C., Ivnik, R.J., Tangalos, E.G., y Kokmen, E. (1999). Mild cognitive impairment: Clinical characterization and outcome. *Archives of Neurology*, 56, 303-8.
16. Fisher, P., Jungwirth, S., Zehetmayer, S., Weissgram, S., Hoenigschnabl, S., Gelpi, E., Krampla, W., y Tragl, K.H. (2007). Conversion from subtypes of mild cognitive impairment to Alzheimer dementia. *Neurology*, 68, 288-291.
17. Petersen, R.C. (2004). Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *Journal of Internal Medicine*, 256, 183-194.
18. Ritchie, K., Artero, S., y Touchon, J. (2001). Classification criteria for mild cognitive impairment. A population-based validation study. *Neurology*, 56, 37-42.
19. Jack C.R., V.J. Lowe, M. L. Senjem, S. D. Weigand, B.J. Kemp, M.M. Shiung, D.S. Knopman, B.F. Boeve, W.E. Klunk, C.A. Mathis and R.C. Petersen (2007) 11C PiB and structural MRI provide complementary information in imaging of Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment. *Brain*, 131, 665-680.
20. Whitwell J.L., S.A. Przybelski, S.D. Weigand, D.S. Knopman, B.F. Boeve, R.C. Petersen and C.R. Jack (2008). 3D maps from multiple MRI illustrate changing atrophy patterns as subjects progress from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *Brain* 130: 1777-1786.
21. Lobo A, Ezquerro J, Gómez Burgada F, Sala JM, Seva Díaz A. (1979). Cognitive mini-test (a simple practical test to detect intellectual changes in medical patients). *Actas Luso Esp Neurol Psiquiatr Cienc Afines*; 7(3):189-202. Spanish.
22. Benedet MJ., y Alexandre MA. (1998). Test de Aprendizaje Verbal España-Complutense (TAVEC) Subprueba: Recuerdo libre inmediato lista B. ISBN: 84-7174-529-1.
23. Peraíta HA., González MJ., Sánchez ML. and Galeote MA. (2001). EMSDA, Evaluación de la Memoria Semántica en pacientes con Demencia tipo Alzheimer. *Psychology in Spain*, 2001, Vol. 5. Nº 1, 98-109.
24. Reynolds, (2002). Comprehensive Trail-Making Test (Parte B).
25. Rey, (2003). Calidad de la Figura compleja de Rey.
26. Fisher, P., Jungwirth, S., Zehetmayer, S., Weissgram, S., Hoenigschnabl, S., Gelpi, E., Krampla, W., y Tragl, K.H. (2007). Conversion from subtypes of mild cognitive impairment to Alzheimer dementia. *Neurology*, 68, 288-291.
27. Sánchez-Benavides G., Gómez-Ansón, B., Sainz A., Vives, Y., Delfino M., Peña- Casanova J. (2010). Manual validation of FreeSurfer's

- automated hippocampal segmentation in normal aging, mild cognitive impairment and Alzheimer disease subjects. *Psychiatry Dis. Neuroimaging* 181: 219-225.
28. Insausti R., Juottonen K, Soininen H, Insausti AM, Partanen K, Vainio P, Laakso MP, Pitkanen A (1998). MR volumetric analysis of the human entorhinal, perirhinal, and temporopolar cortices, *Amer J. Neuroradiol* 19:656-671.
 29. Deweer S, Lehericy B, Pillon M, et al. Memory Disorders in Probable Alzheimer's Disease: The role of hippocampal atrophy as shown with MRI. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 58:590, 1995.
 30. Fox NC, Warrington EK, Freeborough PA et al. Presymptomatic hippocampal atrophy in Alzheimer's disease. A longitudinal MRI study. *Brain* 119, 2001-2007, 1996.
 31. Chan D, Fox NC, Jenkins R, Scahill RI, Crum WR, Rossor MN. (2001). Rates of global and regional cerebral atrophy in AD and frontotemporal dementia. *Neurology*;57(10):1756-63.
 32. Leow AD et al., (2006). ADNI Preparatory Phase Study. Longitudinal stability of MRI for mapping brain change using tensor-based morphometry. *Neuroimage* ;31(2):627-40.
 33. Grundman M et al., (2002). Brain MRI hippocampal volume and prediction of clinical status in a mild cognitive impairment trial. Alzheimer's Disease Cooperative Study. *J Mol Neurosci*;19(1-2):23-7.
 34. Jack CR Jr et al., (2003). MRI as a biomarker of disease progression in a therapeutic trial of milameline for AD. *Neurology*;60(2):253-60.
 35. Apostolova LG, Dinov ID, Dutton RA, Hayashi KM, Toga AW, Cummings JL, Thompson PM. (2006) 3D comparison of hippocampal atrophy in amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Brain*;129(Pt 11):2867-73.
 36. Klauschen F., Goldman A., Barra V., Meyer-Lindenberg A. and Lundervold A. (2009). Evaluation of Automated Brain MR Image Segmentation and Volumetry Methods. *Human Brain Mapping* 30:1310–1327.
 37. Insausti R., Rincón M., González-Moreno C., Artacho-Pérula E., Díez-Peña A. and García-Saiz T. (2009). Neurobiological significance of automatic segmentation: application to the early diagnosis of Alzheimer. *LNCS* 5602/2009. Iwinac'09.

38. Goncharova II, Dickerson BC, Stoub TR, deToledo-Morrell L. (2001) MRI of human entorhinal cortex: a reliable protocol for volumetric measurement. *Neurobiology of Aging*. 22(5):737-45.
39. Honeycutt NA, Smith PD, Aylward E, Li Q, Chan M, Barta PE, Pearlson GD. (1998). Mesial temporal lobe measurements on magnetic resonance imaging scans. *Psychiatry Research* 83(2):85-94.